



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

ETIOLOGIA E TRATAMENTO DAS INFECÇÕES ENDODONTICAS

Trabalho submetido por
Laís Neves Pacheco
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

setembro de 2019



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

ETIOLOGIA E TRATAMENTO DAS INFECÇÕES ENDODONTICAS

Trabalho submetido por
Laís Neves Pacheco
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Professor Doutor Nuno Taveira

e coorientado por
Carlos Franco

setembro de 2019

Dedicatória

A Deus por me permitir realizar este trabalho porque Dele, por Ele, e para Ele são todas as coisas.

Aos meus pais, que a todo momento, demonstraram muito amor e dedicação. Muito obrigada por sempre apoiarem minhas decisões, pelo carinho, pelo suporte e por ajudarem nas realizações dos meus sonhos.

Ao meu irmão, que apesar da distância sempre acreditou em mim, na minha capacidade de crescer e por toda demonstração de afeto, amor e amizade.

Ao meu marido, obrigada por tantas demonstrações de amor, paciência, incentivo, confiança, cumplicidade e dedicação.

Agradecimentos

Quero agradecer ao meu orientador, Professor Doutor Nuno Taveira por toda sua disponibilidade e atenção dispensada e por partilhar dos seus conhecimentos.

Quero agradecer ao meu coorientador, Carlos Franco pelo apoio, estímulo e orientação sempre que solicitado.

Quero agradecer a todos os meus colegas e amigos que me auxiliaram de alguma forma nesse processo.

Resumo

As infecções endodônticas são causadoras de elevada morbidade e quando não adequadamente tratadas podem causar infecções sistêmicas muito graves. Para melhor conhecer e tratar adequadamente estas infecções é importante saber quais os microrganismos que as causam mais frequentemente e qual a resposta destes microrganismos ao tratamento com antibióticos e antissépticos aplicados localmente. Contudo, a informação existente atualmente sobre a etiologia e tratamento das infecções endodônticas é bastante confusa e dispersa devido à plethora de microrganismos que podem causar estas infecções, à utilização de diferentes métodos para a identificação desses microrganismos e às múltiplas estratégias de tratamento disponíveis. Neste contexto, os objectivos deste trabalho serão caracterizar o estado da arte sobre o microbioma das infecções endodônticas agudas, crónicas e recidivantes à luz de métodos de sequenciação genómica de última geração, e caracterizar o estado da arte sobre o tratamento das infecções endodônticas com irrigantes e antibióticos.

Palavras-chave: infecção endodôntica, microbiota endopatogénica, tratamento das infecções endodônticas, soluções irrigantes.

Abstract

Endodontic infections cause high morbidity and when not properly treated can cause very serious systemic infections. To better understand and treat these infections adequately, it is important to know which microorganisms cause them most frequently and what is the response of these microorganisms to treatment with locally applied antibiotics and antiseptics. However, the current information on the etiology and treatment of endodontic infections is very confusing and dispersed due to the plethora of microorganisms that can cause these infections, the use of different methods to identify these microorganisms and the multiple treatment strategies available. In this context, the objectives of this work will be to characterize the state of the art on the microbiome of acute, chronic and recurrent endodontic infections in the light of the latest genomic sequencing methods and to characterize the state of the art on the treatment of endodontic infections with irrigators and antibiotics.

Keywords: endodontic infection, endopathogenic microbiota, treatment of endodontic infection, irrigation.

Índice Geral

| | | |
|------|--|----|
| I. | Introdução..... | 13 |
| II. | Métodos..... | 15 |
| III. | Desenvolvimento..... | 17 |
| 1. | Microbioma oral..... | 17 |
| 1.1 | Métodos de identificação do microbioma..... | 17 |
| 1.2 | Microbioma nas infecções endodônticas agudas, crônicas e recidivantes..... | 21 |
| 2. | Ação das soluções irrigantes na instrumentação dos canais radiculares..... | 32 |
| 2.1 | Hipoclorito de sódio..... | 32 |
| 2.2 | Clorhexidina..... | 34 |
| 2.3 | EDTA..... | 39 |
| 3. | Lesões periapicais..... | 39 |
| IV. | Conclusão..... | 43 |
| V. | Bibliografia..... | 45 |

Índice de figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Diagrama de fluxo PRISMA..... | 16 |
| Figura 2 - Diferentes estratégias para análise de microbiomas humanos..... | 18 |
| Figura 3 – Análise metagenômica da placa supragengival..... | 21 |
| Figura 4 – Diferenças na composição e distribuição microbiana..... | 22 |
| Figura 5 – Comparação dos perfis comunitários dos grupos..... | 23 |
| Figura 6– Casos apresentando as bactérias identificadas mais frequentes..... | 25 |
| Figura 7 - Abundância relativa de espécies e gêneros na amostra..... | 28 |
| Figura 8 – Abundância relativa dos gêneros bacterianos nas amostras..... | 31 |
| Figura 9 - Efeito do hipoclorito de sódio 4% (NaClO)..... | 34 |
| Figura 10 – Resultado do uso de hipoclorito de sódio 1% (NaClO) e clorexidina 2% (CHX)..... | 36 |

Índice de tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 1 – Tabela de discussão com os principais resultados de cada artigo..... | 29 |
| Tabela 2 – Comparação da eficácia de duas substâncias irrigantes..... | 38 |
| Tabelas 3 – Presença bacteriana no ápice radicular e lesão periapical..... | 41 |

Lista de acrónimos

ADN – ácido desoxirribonucleico

ALX – alexidina

aPDT – terapia fotodinâmica antimicrobiana

ARN – ácido ribonucleico

Ca(OH)₂ – hidróxido de cálcio

CBCT – tomografia computadorizada cone beam

CHX – clorexidina

CLD – cloro livre disponível

CTR – cetrimida

DM – diabetes mellitus

EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético

MTA – agregado de trióxido mineral

NaClO – hipoclorito de sódio

NGS – next generation sequencing

PRF – fibrina rica em plaquetas

PRP – plasma rico em plaquetas

PCR – reação da polimerase em cadeia

TAP – pasta triplo antibiótico

I. INTRODUÇÃO

Infeções endodônticas têm sido associadas a microbiota oral comensal que coloniza e prolifera no sistema de canais radiculares como consequência de necrose pulpar secundária a cáries, trauma dentário, ou restaurações defeituosas ou causadas por um tratamento endodôntico mal sucedido (Tzanetakis et al., 2015). As infecções endodônticas são categorizadas como intra-radiculares ou extra-radiculares com base na localização anatômica da infecção. As infecções endodônticas intra-radiculares são divididas em três categorias, de acordo com o momento em que os microrganismos entram no sistema de canais radiculares: infecções primárias, secundárias e persistentes. Microrganismos que inicialmente invadem e colonizam a polpa necrótica causam uma infecção endodôntica primária, enquanto nas infecções secundárias os microrganismos entram no sistema de canais radiculares após intervenção profissional. Infecções endodônticas primárias são infecções polimicrobianas causadas por bactérias anaeróbias. As infecções endodônticas persistentes são infecções primárias ou secundárias resistentes a procedimentos antimicrobianos durante o tratamento de canais radiculares e normalmente são causada por microbiota menos diversificada quando comparadas com as infecções originais (Keskin, Demiryürek, & Onuk, 2017).

As doenças da polpa e tecidos periapicais são dinâmicas e progressivas e, como tal, os sinais e sintomas irão variar dependendo do estágio da doença e do estado do paciente. São divididas em: pulpite reversível, pulpite irreversível assintomática e sintomática, necrose pulpar, periodontite apical assintomática ou sintomática e abscesso apical crônico ou agudo (Glickman, 2009).

Tradicionalmente, a identificação de microrganismos em amostras foi baseada em métodos de cultura envolvendo isolamento e subsequente identificação usando testes morfológicos e bioquímicos. A prevalência de alguns patógenos orais pode ser subestimada usando estas técnicas porque muitas bactérias são ainda difíceis ou impossíveis de multiplicar *in vitro*. Recentemente, o desenvolvimento de tecnologias de sequenciação de próxima geração (NGS) tem permitido estudar os microrganismos causadores das endodontites de forma independente da cultura (Gomes, Berber, Kokaras, Chen, & Paster, 2015). Esta nova abordagem tem demonstrado que as infecções endodônticas podem ser causadas por múltiplas espécies microbianas incluindo bactérias e fungos (Keskin et al., 2017).

Os objetivos do tratamento das infecções do canal radicular são a inativação e remoção dos microrganismos e dos seus metabolitos tóxicos com o intuito de eliminar a inflamação. Contudo, o complexo sistema de canais radiculares e os microrganismos que residem em comunidades resilientes no biofilme podem impedir uma limpeza completa o que pode levar à persistência de periodontite apical (Persoon et al., 2017).

A desinfecção efetiva do canal radicular requer o uso de soluções irrigantes antimicrobianas e de medicação intra-canal para remover a microflora de superfícies durante e depois dos procedimentos químico-mecânicos em áreas a que os instrumentos não conseguem aceder (Ruiz-Linares, Aguado-Pérez, Baca, Arias-Moliz, & Ferrer-Luque, 2017) (Arruda et al., 2018). Quando a desinfecção não é conseguida, os microrganismos e seus produtos podem escapar do canal radicular através de vários caminhos incluindo o forame apical e lateral e canais acessórios, resultando no desenvolvimento de uma infecção periapical que se não for tratada devidamente pode originar infecções sistêmicas muito graves (Gomes et al., 2015). Por exemplo, nos últimos anos, vários estudos observacionais avaliaram a associação entre doença cardiovascular e doença endodôntica, sendo esta fortemente associada com doença arterial coronária estável e síndrome coronário agudo (Messing et al., 2019).

Abordagens de tratamentos para lidar com grandes lesões periapicais variam de desvitalizações, com ou sem cirurgia periapical, retratamentos até à extração dentária (Ghorbanzadeh, Ashraf, Hosseinpour, & Ghorbanzadeh, 2017).

O objectivo deste trabalho foi rever o que se sabe atualmente sobre esse microbioma das infecções endodônticas agudas, crónicas e recidivantes, e sobre os tratamentos dessas infecções com soluções irrigantes, medicação intra-canal e antibióticos.

II. MÉTODOS

Este é um trabalho de revisão sistemática. O processo metodológico utilizado nesta revisão bibliográfica baseou-se no PRISMA statement (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses), que tem como intuito assegurar que as revisões sistemáticas sejam realizadas de forma completa, clara e precisa (Moher, Liberati, Tetzlaff, Altman, & Group, 2009).

A pesquisa bibliográfica do presente estudo foi efetuada em bases de dados como o Pubmed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) que contem mais de 29 milhões de citações de literatura biomédica da MEDLINE, revistas de ciências da vida e livros on-line, e o site análogo de ensaios clínicos (www.clinicaltrials.gov). Também foi realizada pesquisa manual e cruzamento de referências bibliográficas encontradas nos artigos consultados.

Para iniciar a pesquisa foram introduzidas as palavras-chave: “*endodontic infection, endopathogenic microbiota, root canal infection, treatment of endodontic infection, irrigation, endodontic disease*”, nas bases de dados referidas. Foram aplicados filtros e limites adicionais para obter o maior número real de artigos relevantes que se aproximassem do objetivo para incluir na amostra.

Os critérios de inclusão foram restritos a estudos publicados em jornais e revistas científicas, em idioma inglês, entre janeiro de 2015 e agosto de 2019, com exceção de artigos de importância histórica, evitando a inclusão de artigos de revisão de literatura. Nos artigos pesquisados sobre a microbiota das infecções endodônticas foram selecionados apenas artigos em que o método de investigação foi a sequenciação metagenômica.

Os artigos considerados como potencialmente relevantes para serem incluídos na amostra foram os que, após análise dos seus títulos e resumos, se enquadraram nos critérios de elegibilidade. A amostra desta revisão sistemática é composta por 42 artigos (Figura 1).

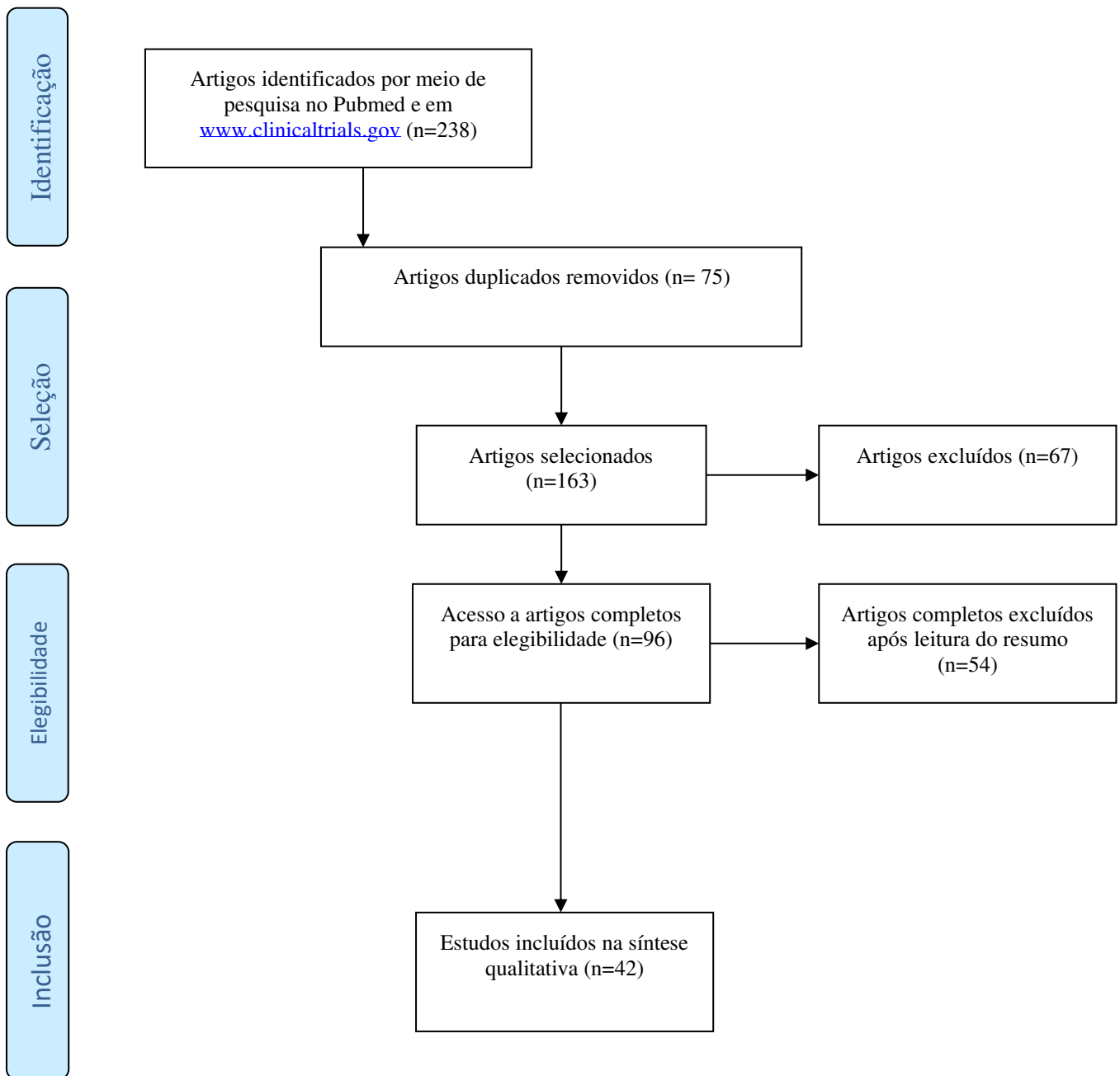


Figura 1 – Diagrama de fluxo PRISMA de revisão sistemática (www.prisma-statement.org).

III. DESENVOLVIMENTO

1. Microbioma oral

1.1 Métodos moleculares de identificação do microbioma

Técnicas genéticas moleculares podem identificar e quantificar o microbioma usando a análise da sequência do gene 16s ARNr, que está presente em todas as bactérias. Esse gene é usado como padrão para a classificação e identificação do microbioma, pois as sequências desse gene contém regiões hipervariáveis que podem fornecer sequências de assinaturas específicas para a espécie, sendo também capaz de reclassificar bactérias em novas espécies ou gêneros, bem como na descrição de novas espécies que ainda não foram cultivadas (Yun et al., 2017). No que se refere ao gene 16s ARNr, as sequências resultantes são agrupadas em unidades operacionais taxonômicas (OTUs), ou seja, sequências que são similares entre si, de maneira a identificar unidades taxonômicas por comparação com bases de dados, sendo a quantidade de OTUs calculada para cada amostra.

Na análise metagenômica, as sequências de ADN obtidas são mapeadas para referenciar genomas/ genes, ou então utilizadas para a montagem de novos genomas, caso não exista equivalentes entre as sequências e as bases de dados. A seguir, a quantidade de genomas/genes presentes é avaliado, também por comparação com bases de dados já existentes (Figura 2) (Bikel et al., 2015).

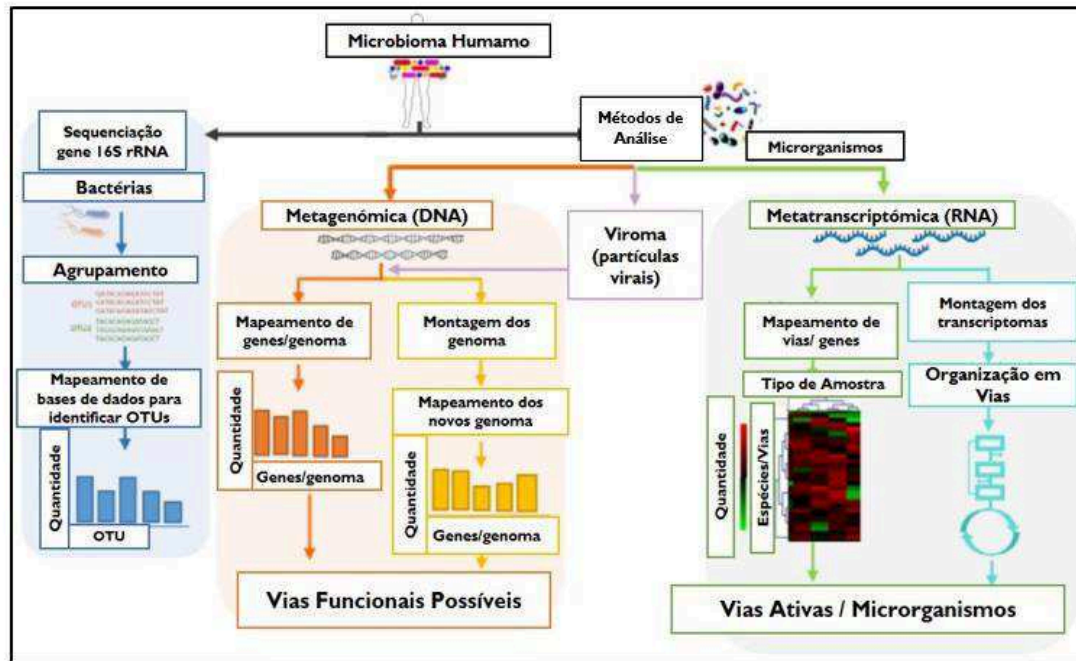


Figura 2 - Diferentes estratégias de sequenciamento e bioinformática para análise de microbiomas humanos. No perfil de gene 16S ARNr, as sequências em estado naturais obtidas são passadas por filtros de qualidade para minimizar a presença de artefatos de sequenciação. As leituras resultantes da sequência filtrada são agrupadas em unidades taxonômicas operacionais (OTUs), que representam organismos semelhantes. Depois disso, a identidade taxonômica é atribuída para cada OTU baseada em homologia de sequência contra bancos de dados de genes 16S ARNr conhecidos e a abundância relativa de cada OTU é calculada para cada amostra. A tabela de OTUs resultante também é usada para quantificar a diversidade de população dentro e entre as amostras, como as medidas de diversidade alfa e beta, respectivamente. Nos métodos de análises, são realizadas análises metagenômicas, metatranscriptômicas e virômicas. Na análise metagenômica, as sequências de ADN obtidas podem ser mapeadas para referenciar genomas / genes ou usadas para a montagem de novo de genomas. Em seguida, a abundância relativa dos genomas / genes presentes e o potencial funcional das sequências podem ser avaliados usando bancos de dados anotados funcionais. Na análise virômica, primeiro as partículas virais (VPs) devem ser enriquecidas e posteriormente sequenciadas para obter os genomas do vírus. Além disso, para analisar os genes ativos e espécies do microbioma, a análise metatranscriptômica é aplicada e as sequências de ARN obtidas são mapeadas para vias de referência e genes. Os resultados são usados para identificar as vias metabólicas ativas, genes e microrganismos. Assim, a abundância relativa de cada via metabólica ativa / gene / microrganismo no microbioma humano é determinada. A montagem de novo de genomas e transcriptomas pode também ser realizada para identificar novos genomas ou vias metabólicas (Bikel et al., 2015; Gonçalves, 2016).

O banco de dados de microbiomas orais humanos (HOMD) é a primeira descrição selecionada de um microbioma associado a humanos e fornece ferramentas para uso na compreensão do papel do microbioma na saúde e na doença. O objetivo do HOMD é fornecer à comunidade científica informações abrangentes sobre as espécies de procariontes presentes na cavidade oral humana. O HOMD é baseado em um esquema provisório de nomenclatura baseado no gene 16S ARNr. As amostras vieram de indivíduos saudáveis e indivíduos com mais de uma dúzia de estados da doença,

como cárie, doença periodontal, infecções endodônticas e cancro oral. O HOMD vincula dados de sequência com informações fenotípicas, filogenéticas, clínicas e bibliográficas (Gao et al., 2018).

Existe uma comunidade microbiana oral conservada em bocas saudáveis ao nível do género; no entanto, apesar dos aspetos comuns, a diversidade microbiana é específica do indivíduo e específica do local. Anaeróbios estritos, como *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Prevotella* e *Treponema*, residem principalmente em fendas gengivais ou bolsas periodontais onde o ambiente é anaeróbico. As interações dentro das comunidades microbianas de espécies mistas podem ser sinérgicas embora, a atividade metabólica microbiana possa modificar o ambiente oral e induzir a seleção microbiana para criar um microbioma mais patogénico. Enquanto o bacterioma oral está cada vez mais bem caracterizado, o microbioma fúngico ou micobioma é novo e pouco reconhecido. A pesquisa sobre fungos orais tem-se tradicionalmente centrado na espécie fúngica oportunista *Candida albicans*, que, embora seja um habitante normal da mucosa oral, pode rapidamente transitar para um patogénico. Tomando uma abordagem de pirosequenciação, perfilando o microbioma oral “basal” de indivíduos saudáveis identificou-se 85 géneros e mais de 100 diferentes espécies de fungos comensais. Embora as espécies de *Candida* tenham sido as mais prevalentes, três outros géneros - *Aspergillus*, *Fusarium* e *Cryptococcus*, conhecidos por serem patogénicos em humanos - também foram frequentemente isolados (Sultan, Kong, Rizk, & Jabra-Rizk, 2018).

Wang et al. (2017) caracterizaram a microbiota oral comparando e analisando saliva de 20 crianças com cárie e 21 crianças livres de cárie de origem chinesa Han com base no sistema de sequenciamento de ADN de molécula única em tempo real. Concluiu-se que *Prevotella spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Dialister spp.* e *Filifactor spp.* podem estar relacionados à patogénese e progressão da cárie dentária (Wang et al., 2017).

Com o intuito de compreender a constituição do microbioma oral em estado de saúde, Mark Welch, et al. (2016) avaliaram a placa supragengival de 22 indivíduos saudáveis, orientados a se abster de higiene oral por 12-48 horas (Mark Welch, Rossetti, Rieken, Dewhirst, & Borisy, 2016). A análise metagenómica da microbiota residente na placa supragengival permitiu identificar os géneros bacterianos mais abundantes e prevalentes (Figura 3A). A análise de sequências foi realizada utilizando dados disponíveis publicamente do Banco de Dados de Microbiomas Humanos (HOMD), que contém 771 entradas ao nível da espécie. Dos 57 géneros detetados na placa

supragengival (SUPP), a maioria apresentava baixa abundância e baixa prevalência. Em contraste, 13 gêneros tiveram pelo menos 3% de abundância média e também foram altamente prevalentes, cada um sendo detectado em mais de 90% das amostras de SUPP. Coletivamente, esses 13 gêneros foram responsáveis por 85% dos dados de sequenciação da SUPP. Os mesmos 13 gêneros também foram responsáveis por mais de 80% dos dados da placa subgengival, indicando uma estreita relação entre os dois locais da placa. Por causa de sua abundância e prevalência, essas taxas (Figura 3B) provavelmente formam a base do microbioma da placa saudável. A análise do habitat do microbioma oral sugeriu que um gênero, *Corynebacterium*, em particular, era extraordinariamente específico para a placa supragengival e subgengival. O HOMD reconhece seis espécies orais dentro do gênero *Corynebacterium*. No entanto, destes seis, apenas dois, *Corynebacterium matruchotii* e *Corynebacterium durum*, estavam presentes em níveis significativos na placa. Embora *C. matruchotii* fosse a espécie dominante na maioria dos indivíduos, *C. durum* era dominante em alguns. Gêneros como o *Streptococcus* ocupavam uma ampla gama de habitats, como a placa supragengival e a placa subgengival, a refletir a capacidade de ser um eficiente colonizador de múltiplas superfícies orais, assim como o *Haemophilus* e *Veillonella* (Mark Welch et al., 2016).

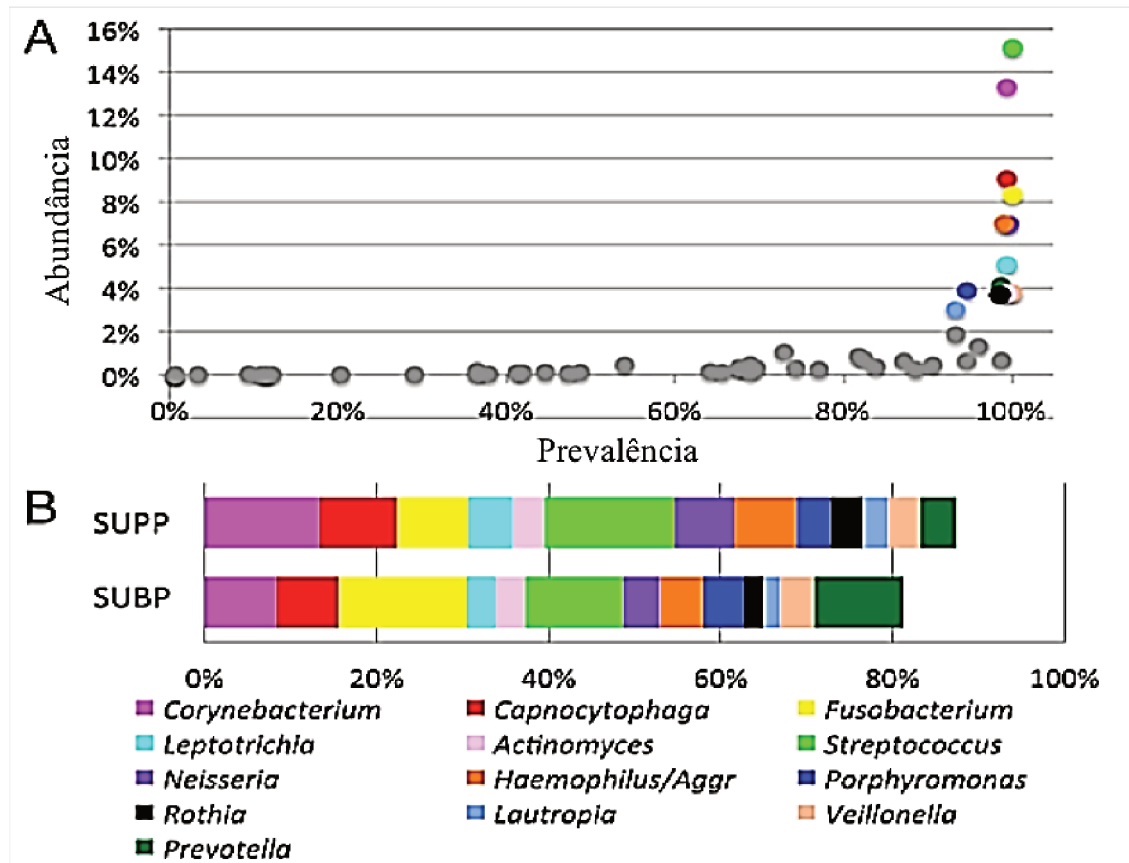


Figura 3 – A análise metagenômica aponta para *Corynebacterium* como um táxon chave na placa supragengival. A) Gráfico de abundância de prevalência para placa supragengival. (B) Abundância cumulativa de gêneros em ambas as placas supra e subgingival. Gêneros com mais de 3% de abundância em SUPP, média em 148 indivíduos, são indicados por pontos coloridos em A e segmentos de barra em B; B também mostra a abundância desses gêneros na SUBP. Os dados são da região HMP V3 – V5 do RNAr 16S. Imagem adaptada de (Mark Welch et al., 2016).

1.2 Microbioma nas infecções endodônticas agudas, crônicas e recidivantes

Com o intuito de avaliar o microbioma de pulpites induzidas por cárie, setenta e cinco casos foram diagnosticados com base nos critérios diagnósticos da American Association of Endodontics e divididos em 4 grupos: polpa normal com cárie profunda (PN; n = 13), pulpite reversível com apenas dor provocada pelo frio (PCR; n = 17), pulpite reversível com dor provocada a frio / calor (CHRP; n = 24) e pulpite irreversível sintomática (SIP; n = 21). As amostras foram sequenciadas no 16s rADN e produziram-se 9100 unidades taxonômicas operacionais. *Lactobacillus* teve a maior abundância relativa ao nível de gênero entre os 4 grupos. Na polpa normal com cárie profunda e

pulpite reversível, *Firmicutes* e *Actinobacteria* foram altamente abundantes. Na pulpite irreversível sintomática, a abundância de *Firmicutes* foi a mais alta (Figura 4). *Firmicutes* e *Actinobacteria* foram responsáveis pela maioria das sequências detetadas nos 4 grupos. O primeiro foi representado principalmente por *Lactobacillus*, *Pseudoramibacter* e *Streptococcus*, enquanto os géneros representativos mais comuns deste último foram *Propionibacterium*, *Olsenella* e *Actinomyces*, sugerindo sua forte associação com cárie dentinária profunda, bem como pulpite reversível e irreversível. A nível de género, as bactérias potenciais associadas à pulpite reversível com dor provocada pelo frio e pelo calor foram *Actinomyces* e Não Identificado_*Veillonellaceae* (Zheng et al., 2019).

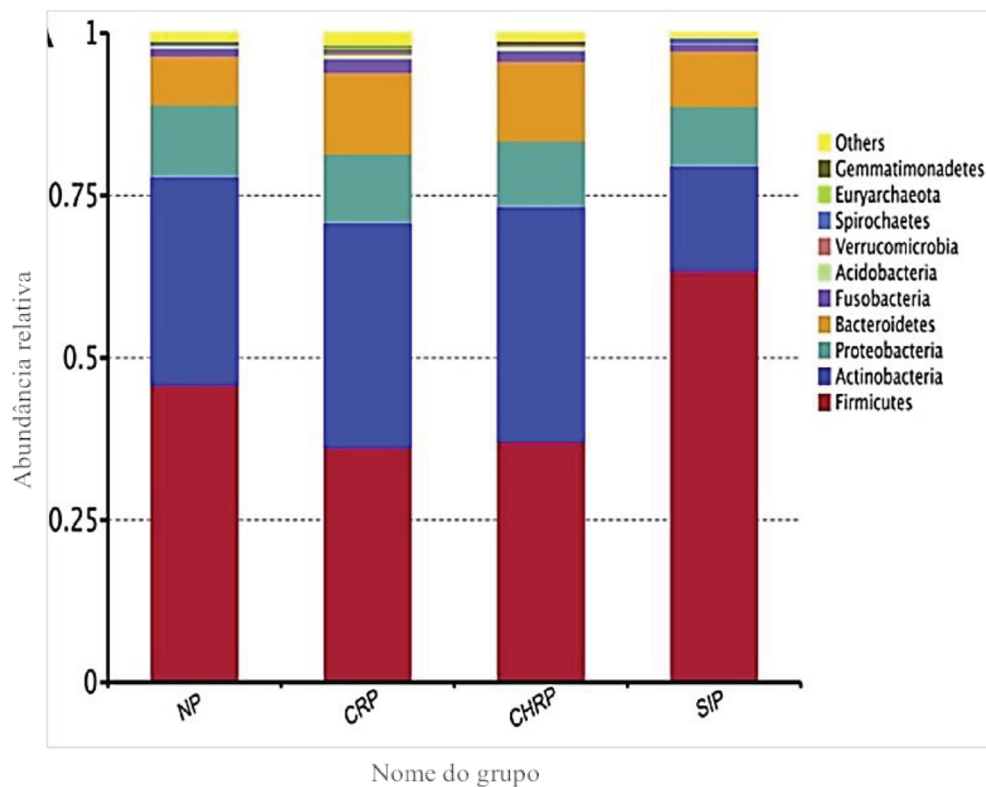


Figura 4 – Diferenças na composição e distribuição microbiana entre os 4 grupos: (A) Média dos 10 principais filos mais abundantes identificados em cada grupo. CHRP, pulpite reversível com dor provocada a frio / calor (n = 24); PCR, pulpite reversível com apenas dor provocada pelo frio (n = 17); NP, polpa normal com cárie dentinária profunda (n = 13); SIP, pulpite irreversível sintomática (n = 21). Figura adaptada de (Zheng et al., 2019).

Com o objetivo de identificar o microbioma endodôntico em dentes decíduos com cárie e infecção endodôntica utilizando pirosequenciação de alto rendimento, dez molares decíduos cariados, sendo cinco amostras superiores e cinco inferiores, foram analisados. (Yun et al., 2017). Neste estudo foram sequenciadas as regiões V1 e V3 do gene 16S ARNr. No total 187 géneros foram identificados na infecções endodônticas, os 18 mais abundantes são mostrados na Figura 5.

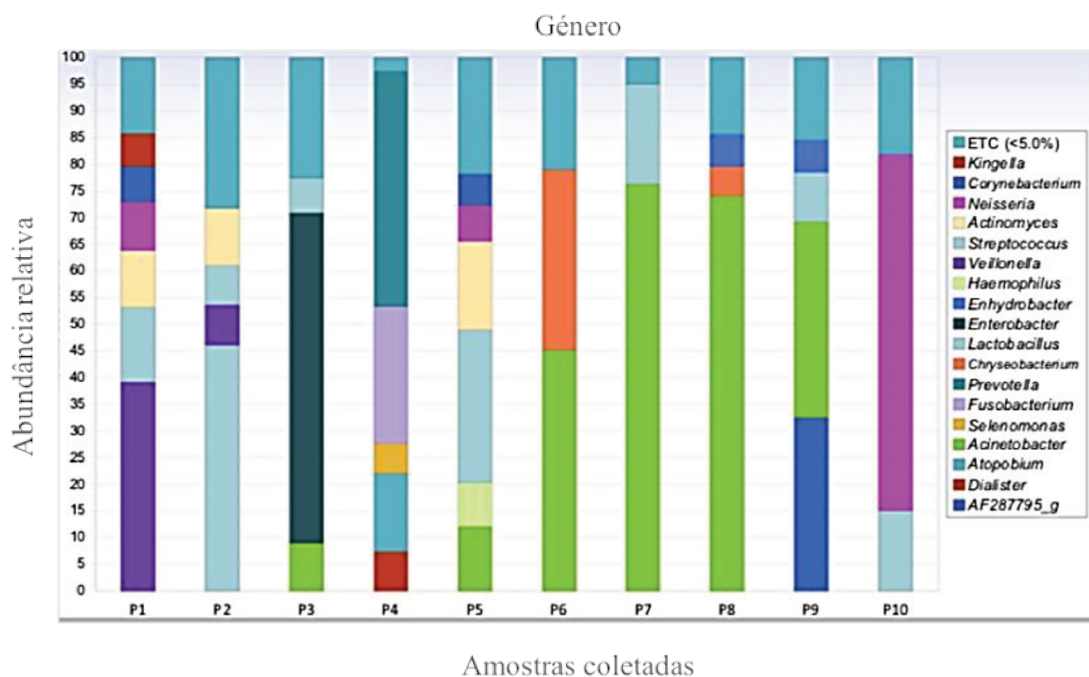


Figura 5 – Comparação das comunidades bacterianas encontradas nos grupos ao nível de género (mais de 5% do microbioma) entre as 10 amostras coletadas para o estudo (P1 a P10). Figura adaptada de (Yun et al., 2017).

No estudo de Nóbrega, Montagner, Ribeiro, Mayer, & Gomes (2016) para explorar a diversidade bacteriana utilizando análise clonal, foram coletadas amostras de 10 canais radiculares de pacientes com abscesso apical agudo, que apresentassem necrose pulpar, dor espontânea, lesão periapical e sensibilidade à percussão no dente examinado. Obteve-se 689 fragmentos de 16s ARNr clonados que foram sequenciados e utilizados para análise filogenética. O número de clones analisados em cada caso variou de 55 a 86, dependendo da qualidade da sequência de fragmentos. A proporção

de cada filotipo foi estimada considerando a microbiota recuperada em cada caso. A maioria das espécies e filotipos identificados neste estudo representaram menos de 10% da microbiota total recuperada de cada amostra. No entanto, algumas espécies representaram mais de 30% da microbiota por amostra, por exemplo, *Exiguobacterium mexicanum*, *Enterococcus faecalis*, e *Streptococcus intermedius*. O número médio da taxa bacteriana por canal ficou em torno de 11 a 21, a maioria consistia em bactérias anaeróbicas gram-negativas. Os táxons mais frequentemente encontrados pertenciam ao filo *Firmicutes* (43,5% dos identificados), identificados em todas as 10 amostras, seguidos pelo filo *Bacteroidetes* (22,5%), detetado em nove amostras. O filo *Fusobacteria* representou apenas 3,9% dos taxa identificados; no entanto, esteve presente em sete amostras o filo *Proteobacteria* (13,2%) foi detetado em cinco amostras, *Actinobacteria* (6,5%) em quatro amostras, *Synergistetes* (5,2%) e *Spirochaetes* (3,9%) em duas amostras, e *Deinococcus-Thermus* (1,3%) em uma amostra. Espécies pertencentes ao gênero *Prevotella*, incluindo *P. baroniae*, *P. buccae*, *P. denticola*, *P. intermedia*, *P. loescheii*, *P. maculosa*, *P. marshii*, *P. oris* e *P. oulorum* foram detetadas em nove das 10 amostras estudadas. *Fusobacterium nucleatum*, *Filifactor alocis* e *Peptostreptococcus stomatis* foram as espécies mais frequentemente detetadas (6/10 canais), seguidas por *Dialister invisus*, *Phocaeicola abscessus*, *Eubacterium spp.*, o clone oral de *Lachnospiraceae* não caracterizado (5/10 canais), *Porphyromonas spp.* e *Parvimonas micra* (4/10 canais) (Figura 6). A análise clonal de infecções endodônticas primárias agudas revelou uma grande diversidade de espécies que infetam os canais radiculares. Não apenas espécies geralmente isoladas em estudos de cultura foram detetadas, mas também espécies que são difíceis de cultivar e que têm sido comprovadas por abordagens moleculares como patógenos endodônticos.

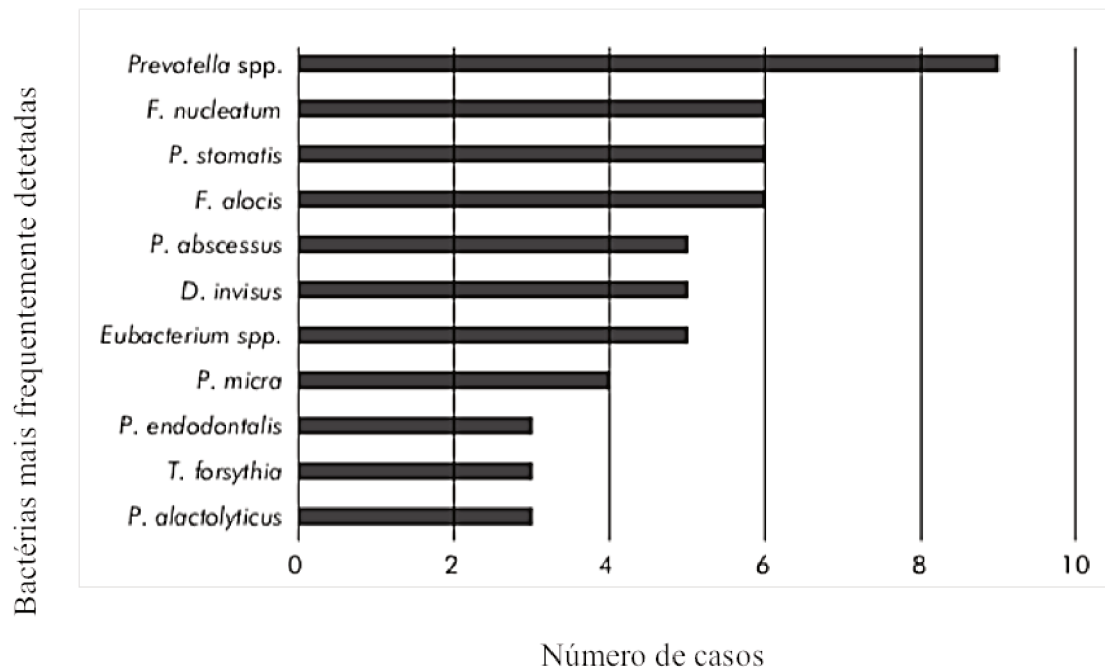


Figura 6 – Número de casos apresentando as bactérias mais frequentemente detetadas após análise filogenética. Espécies pertencentes ao gênero *Prevotella*, incluindo *P. baroniae*, *P. buccae*, *P. denticola*, *P. intermedia*, *P. loescheii*, *P. maculosa*, *P. marshii*, *P. oris* e *P. oulorum* foram detetadas em nove das 10 amostras estudadas. *Fusobacterium nucleatum*, *Filifactor alocis* e *Peptostreptococcus stomatis* foram as espécies mais frequentemente detetadas (6/10 canais), seguidas por *Dialister invisus*, *Phocaeicola abscessus*, *Eubacterium* spp., o clone oral de *Lachnospiraceae* não caracterizado (5/10 canais), *Porphyromonas* spp. e *Parvimonas micra* (4/10 canais). Figura adaptada de (Nóbrega, Montagner, Ribeiro, Mayer, & Gomes, 2016).

No estudo de Tzanetakis et al. (2015) sobre composição bacteriana da comunidade de infecções endodônticas primárias e persistentes uma amostra de 48 dentes foi classificada em 4 grupos de acordo com seu estado primário ou secundário de infecção endodôntica e a presença de sintomas. Os dois primeiros grupos incluíram 24 dentes uni ou multiradiculados, com polpa necrótica (confirmadas através de testes de sensibilidade pulparens frios e elétricos) e com evidência radiográfica de periodontite apical caracterizada por reabsorção óssea ao redor do ápice radicular. Treze dentes foram diagnosticados com periodontite apical aguda ou abscesso apical agudo e, portanto, foram classificados como sintomáticos, enquanto os 11 dentes restantes foram diagnosticados com periodontite apical crônica e foram classificados como assintomáticos, dentre esses últimos, cinco apresentavam um trato sinusal pré-operatório. Condições assépticas rigorosas foram mantidas durante o procedimento de amostragem endodôntica. Os canais foram instrumentados até a lima número 30,

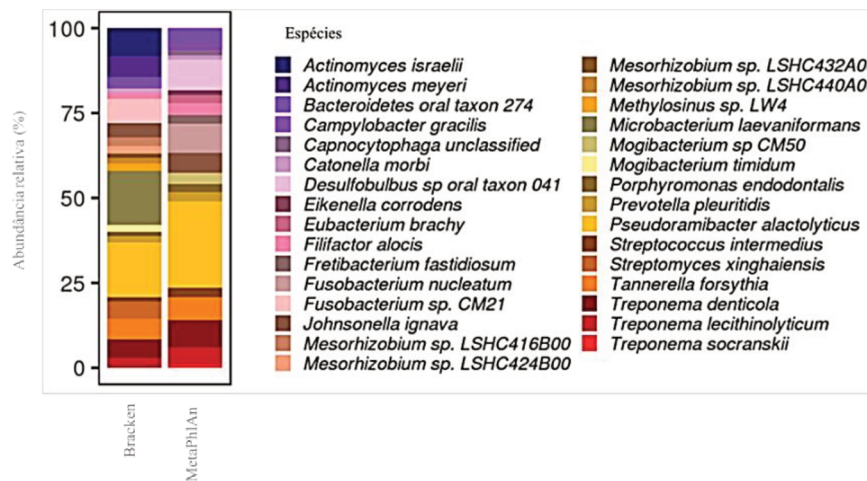
irrigado com solução salina estéril e então as amostras foram coletadas através do uso de pontas de papel. As limas utilizadas tiveram os cabos cortados e foram acondicionadas juntamente com as pontas de papel em criotubos, quando possível foi também colhidos resíduos dos materiais de preenchimento que estavam no interior dos canais. O ADN genómico foi extraído das amostras, a amplificação da região hipervariável V1-V2 do 16s ARNr bacteriano foi realizada em ADN total a partir de 48 amostras coletadas e os dados foram analisados. A análise bioinformática dos dados de pirosequenciação foi realizada usando o software *Quantitative Insights em Ecologia Microbiana* (QIIME). As sequências foram alinhadas e agrupadas em unidades taxonómicas operacionais (OTUs) e o Banco de Dados de Microbiomas Humanos Humanos (HOMD) foi usado para atribuição de taxonomia de OTUs. Após a atribuição taxonómica, as sequências foram alinhadas e árvores filogenéticas foram construídas. Para identificar bactérias potencialmente não cobertas pelo HOMD, usou-se um segundo banco de dados genérico (Greengenes [GG]) e comparou-se os achados usando os 2 bancos de dados. Em infecções primárias, foi identificado em média 10 filotipos, 50 géneros e 112 filotipos ao nível de espécie por amostra, enquanto esses números eram mais altos (12 filotipos, 80 géneros e 162 filotipos de nível de espécie) em dentes com infecções persistentes. A nível de género, *Bacteroidaceae* não identificado, *Pyramidobacter* e *Parvimonas* foram os mais abundantes em infecções primárias, enquanto *Fusobacterium*, *Bacteroidaceae* e *Prevotella* foram os mais abundantes em dentes com infecções persistentes, com acréscimo de *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Sphingomonas* e *Ralstonia*. Vários géneros adicionais foram detetados usando o banco de dados GG, como *Candidatus solibacter*, *Sharpea*, *Methylobacterium*, *Novosphingobium* e *Jathinobacterium* (Tzanetakis et al., 2015).

No estudo de Zandi et al. (2018) sobre as infecções endodônticas foi analisado a microbiota do canal radicular de dentes desvitalizados com periodontite apical pós-tratamento, antes e após a instrumentação mecânica e a irrigação com hipoclorito de sódio 1% ou digluconato de clorexidina 2%, foi analisada através do método de pirosequenciação. Os procedimentos de retratamento e amostragem foram os seguintes. Dez dentes foram isolados com dique de borracha e foi realizada a desinfecção do campo operatório. A guta percha (material de obturação que é usado para preencher os canais radiculares) coronal foi removida, um instrumento endodôntico que foi usado para remover o material de preenchimento a nível apical foi cortado e guardado em um criotubo. O canal foi preenchido com soro fisiológico e novas amostras foram coletadas

com ponta de papel estéril, que também foram acondicionadas em criotubos. E por fim, após a preparação apical foi completada, dividindo a amostra em dois grupos, em 5 dentes foi utilizado o hipoclorito de sódio 1% e nos outros 5 a solução de clorexidina 2% como solução irrigadora. Em seguida, as paredes do canal foram instrumentadas e uma nova amostra foi coletada com pontas de papel estéreis. A extração e amplificação do ADN da região hipervariável V3-V5 do 16s ARNr bacteriano foram realizadas em ADN total, seguida da sequenciação do ADN, processamento de dados e taxonómica. O fluxo de trabalho de análise de dados foi implementado com base no QIIME (Quantitative Insights into Ecology Microbial). As leituras foram agrupadas em unidades taxonómicas operacionais (OTUs) com o banco de dados do gene 16s ARNr do banco de dados Silva (SSU Ref NR 119) e do Banco de Dados Humano Microbioma Oral (HOMD). A diversidade de espécies em cada amostra foi determinada diretamente no banco de dados HOMD 16s ARNr. Na primeira e segunda amostra, os géneros mais abundantes foram *Streptococcus*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Treponema*, *Parvimonas*, *Fretibacterium* e *Veillonella*. Na terceira amostra, o grupo que foi irrigado com NaClO mostrou persistência de *Streptococcus intermedius* e o grupo da CHX, *Streptococcus oralis/mitis*, *Streptococcus gordonii* e *Fretibacterium fastidiosum* (Zandi et al., 2018).

No estudo de Fritz et al. (2019) foi utilizada uma única amostra de biofilme clínico. Foi coletado um instrumento auxiliar de obturação completamente extravasado no seio maxilar de um dente previamente desvitalizado com infeção persistente no canal radicular, para visualizar a microestrutura e subsequentemente analisar a composição da comunidade bacteriana observada. Como controlo, foram preparados biofilmes de *P. aeruginosa* por cultura em placas de cultura por 48 horas; estes biofilmes foram visualizados com microscopia eletrónica de varredura. As amostras foram então submetidas à extração de ADN e sequenciamento. Os géneros e espécies identificados por ambos os métodos com abundância relativa maior que 1% são mostrados na Figura 7. A microbiota de canais radiculares persistentemente infetados é dominada por bactérias anaeróbias estritas e facultativas. Um alto nível de *Actinomyces sp.*, *Fusobacterium sp.* e *Treponema sp.* reflete espécies bacterianas de origem endodôntica também quando amostradas extra radicularmente.

A)



B)

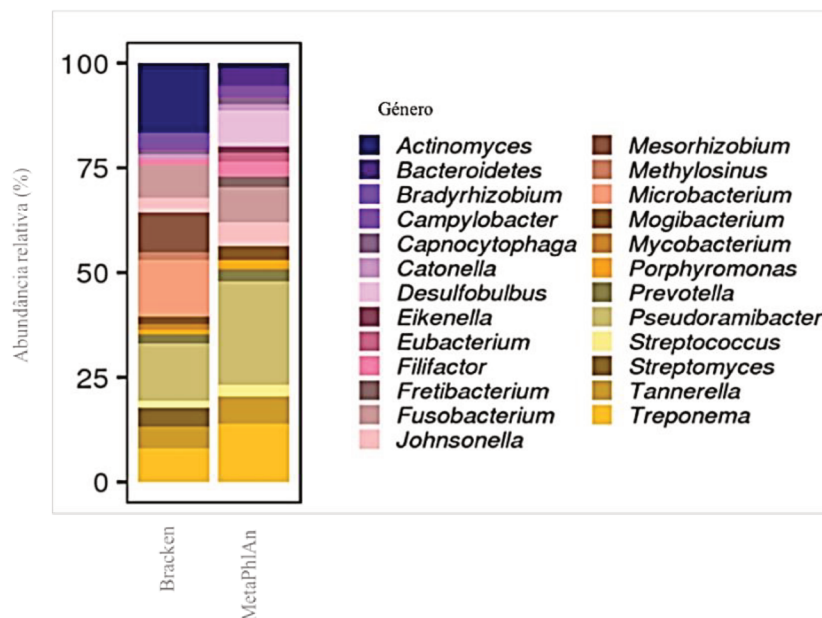


Figura 7 - Abundância relativa de espécies (A) e gêneros (B) na amostra clínica coletada do instrumento removido do seio maxilar, estimada por Bracken e MetaPhlAn, após a confirmação da comunidade bacteriana através de microscopia eletrônica de varredura e sequenciamento. As abundâncias relativas de gêneros e espécies foram calculadas a partir de espécies representando mais de 1% da abundância relativa total. Figura adaptada de (Fritz et al., 2019).

No estudo de Henriques, et al. (2016) foram tiradas amostras das paredes dos canais radiculares de 40 pacientes com lesões periapicais persistentes ao tratamento endodôntico. O ADN da amostra foi amplificado e os níveis de 107 táxons bacterianos foram analisados por hibridização. Os táxons que apresentaram as maiores proporções médias de sequências de ADN (constituindo a população dominante) foram *Corynebacterium diptheriae*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus sobrinus* e *Stenotrophomonas maltophilia*. Entre as populações subdominantes, destacam-se

Eubacterium saphenum, *Helicobacter pylori*, *Dialister pneumosintes*, *Clostridium difficile*, *Enterobacter agglomerans*, *Salmonella entérica*, *Mobiluncus mulieris* e *Klebsiella oxytoca*. Na população de bactérias presentes nas menores proporções médias foram encontrados (população residual), *Bacteroides ureolyticus*, *Haemophilus influenzae* e *Prevotella oris* e *Enterococcus faecalis* (Henriques et al., 2016).

No artigo de revisão realizado por Prada, et al. (2019), onde foram reunidos artigos a partir do ano 2000, com o objetivo de analisar a composição dos biofilmes dos canais radiculares de dentes com periodontite apical após tratamento endodôntico, em relação ao patógeno mais presente nos casos sem sucesso, os resultados encontrados estão descritos na Tabela 1 (Prada et al., 2019).

Tabela 1. Tabelas de discussão com os principais resultados de cada artigo classificados por tipo de estudo. Tabela adaptada de (Prada et al., 2019).

| Autores e ano | Tipos de estudos | Resultados |
|--|------------------|--|
| Narayanan L, Vaishnavi C. 2010 (4) | Revisão | Bactérias envolvidas no fracasso do tratamento endodôntico: - <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Prevotella spp.</i> , <i>Campylobacter rectus</i> , <i>Streptococci</i> , <i>Lactobacilli</i> , <i>Staphylococci</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>Olsenella uli</i> , <i>Parvimonas micras</i> , <i>Pseudoramibacter alactolyticus</i> , <i>Propionibacterium spp.</i> , <i>Actinomyces spp.</i> , <i>Bifidobacterium spp.</i> , <i>Eubacterium spp.</i> , <i>Candida albicans</i> |
| Pinheiro E, Gomes B. y col. 2003 (7) | In vivo | Bactérias isoladas e sua prevalência na falha endodôntica: <i>Enterococcus spp.</i> (36.7%), <i>Enterococcus faecalis</i> (45.8%) , <i>Streptococcus spp.</i> (30%), <i>Peptostreptococcus spp.</i> (23.3%), <i>Actinomyces</i> (13.3%), <i>Prevotella spp.</i> (10%), <i>Stafilococcus</i> (10%), <i>Gemella</i> (10%), <i>Fusobacterium</i> (6.7%), <i>Veionella</i> (6.7%), <i>Lactobacillus</i> (6.7%), <i>Propionibacterium</i> (3.3%), <i>Haemofilus</i> (3.3%) |
| Endo M, Ferraz C y col. 2013 (10) | In vivo | Microrganismos presentes em dentes com canais obturados com periodontite apical: <i>Stafilococcus spp.</i> (13.63%), <i>Actinomyces spp.</i> (12.72%), <i>Gemella spp.</i> (10.9%), <i>Gemella morbillorum</i> (12%), <i>Haemofilus spp</i> (9.09%), <i>Enterococcus spp.</i> (7.27%), <i>Enterococcus faecalis</i> (13.33%), <i>Parvimonas micra</i> (24%) , <i>Prevotella nigrescens</i> (14.67%) |
| Pereira R, Rodrigues V y col. 2017 (11) | In vivo | Microrganismos isolados em dentes com fracasso endodôntico: <i>F. nucleatum</i> (71.6%) , <i>D. pneumosintes</i> (58.3%), <i>T. forsythia</i> (48.3%), <i>A. actinomycetemcomitans</i> (25%), <i>T. denticola</i> (16.6%), <i>P. intermedia</i> (15%), <i>P. gingivalis</i> (15%), <i>E. faecalis</i> (11.6%), <i>P. endodontalis</i> (10%), <i>Prevotella nigrescens</i> (1.6%) |
| Henriques L, Brito L y col. 2016 (12) | In vivo | Microrganismos isolados em tratamentos com infecções persistentes: <i>Corynebacterium difteria</i> (8.03%) , <i>Porfiromonas gingivalis</i> (5.42%), <i>Streptococcus sobrinus</i> (5.33%), <i>Stenotrofomonas maltophilia</i> (4.72%), <i>Eubacterium safenum</i> (3.85%), <i>Helicobacter pylori</i> (3.16%), <i>Dialister pneumosintes</i> (3.12%), <i>Clostridium difficile</i> (2.74%), <i>Enterobacter agglomerans</i> (2.64%), <i>Salmonella entérica</i> (2.51%), <i>Mobiluncus mulieris</i> (2.44%), <i>Klebsiella oxytoca</i> (2.32%), <i>Enterococcus faecalis</i> (0.52%), <i>Bacteroides ureolyticus</i> (0.04%), <i>Haemophilus influenzae</i> (0.04%), <i>Prevotella oris</i> (0.01%) |

| | | |
|--|---------|---|
| Rocas I, Siqueira J 2012 (13) | In vivo | Bactérias isoladas nos dentes com periodontite apical pós-tratamento: <i>Propionibacterium acnes</i> (52%) , <i>Fusobacterium nucleatum</i> (24%), <i>Streptococcus spp</i> (17%), <i>Propionibacterium acidifaciens</i> (14%), <i>Pseudoramibacter alactolyticus</i> (14%), <i>E. faecalis</i> (12%), <i>Tannarella forsythia</i> (12%) |
| Schirrmeister J, Liebenow AL y col. 2009 (14) | In vivo | Microrganismos isolados em dentes com periodontite apical pós-tratamento: <i>Enterococcus avium</i> (1/10), <i>E. faecalis</i> (3/10), <i>E. faecium</i> (1/10), <i>Staphylococcus epidermidis</i> (1/10), <i>Streptococcus anginosus</i> (1/10), <i>Streptococcus intermedius</i> (1/10), <i>Streptococcus sanguinis</i> (1/10), <i>Vagococcus fluvialis</i> (1/10), <i>Campylobacter gracilis</i> (2/10), <i>Entreobacter amnigenus</i> (1/10), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1/10), <i>Atopobium rimae</i> (2/10), <i>Olsenella uli</i> (2/10), <i>Parvimonas micra</i> (4/10), <i>Slackia exigua</i> (2/10), <i>Actinomyces georgiae</i> (1/10), <i>Propionibacterium acnes</i> (2/10), <i>Solbacterium moorei</i> (6/10), <i>Dialister invisus</i> (3/10), <i>Megasphaera spp</i> (1/10), <i>Veillonella parvula</i> (1/10), <i>Tannarella forsythia</i> (2/10), <i>Synergistes spp</i> (1/10), <i>Fusobacterium nucleatum</i> (6/10), <i>Porphyromonas gingivalis</i> (1/10) |
| Siqueira J, Antunes H y col. 2016 (15) | In vivo | Microrganismos isolados em dentes com periodontite apical pós-tratamento: <i>Proteobacteria</i> (46%), <i>Firmicutes</i> (18%), <i>Fusobacteria</i> (15%), <i>Actinobacteria</i> (8%), <i>E. faecalis</i> (1.9%). |
| Siqueira J, Alves F y col. 2011 (23) | Ex vivo | Microrganismos isolados em periodontite apical crônica: <i>Fusobacterium</i> (15%), <i>Pseudoramibacter</i> (8%), <i>Novosphingobium</i> (8%), <i>Ralstonia</i> (6%), <i>Bacteroides</i> (5%). |
| Noguchi N, Noiri Y y col. 2005 (24) | In vivo | Bactérias responsáveis pela formação de biofilme extrarradicular: <i>Fusobacterium nucleatum</i> (6.13%), <i>Porphyromonas gingivalis</i> (28.17%), <i>Prevotella spp</i> (4.31%), <i>Tannarella forsythensis</i> (11.27%), <i>Eubacterium spp</i> (2.65%), <i>Porphyromonas spp</i> (1.57%), <i>Prevotella intermedia</i> (2.24%), <i>Bacteroides spp</i> (3.48%), <i>Biophila wadsworthia</i> (0.83%), <i>Corynebacterium matruchotii</i> (0.41%), <i>Desulfobulbus spp</i> (1.91%), <i>Fusobacterium spp</i> (0.83%), <i>Porphyromonas gulae</i> (3.31%), <i>Dialister spp</i> (0.41%), <i>Leptotrichia spp</i> (0.33%), <i>TM7 phylum spp</i> (0.41%), <i>Actinomyces spp</i> (0.25%), <i>Campylobacter gracilis</i> (0.25%), <i>Capnocytophaga spp</i> (0.58%), <i>Capnocytophaga sputigena</i> (0.33%), <i>Chloroflexigenomo spp</i> (0.99%), <i>Haemophilus paraphrophilus</i> (0.99%), <i>Lachnospiraceae oral clone</i> (0.25%), <i>Rothia dentocariosa</i> (0.50%), <i>Veillonella spp</i> (0.75%), <i>Actinomyces gerencseriae</i> (0.58%), <i>Actinomyces naeslundii</i> (0.25%), <i>Atopobium rimae</i> (0.50%), <i>Capnocytophaga granulose</i> (0.17%), <i>Corynebacterium glucuronolyticum</i> (0.66%), <i>Corynebacterium spp</i> (0.25%), <i>Peptostreptococcus spp</i> (0.50%), <i>Prevotella denticola</i> (0.17%), <i>Providencia stuartii</i> (1.49%), <i>Rahnella spp</i> (0.17%). |
| Chan E, McLaughlin R y col 2000 (27) | Revisão | Tipos de <i>Treponema</i> que sobrevivem a medidas de desinfecção: <i>Treponema denticola</i> , <i>T. socranskii</i> , <i>T. pectinovorum</i> , <i>T. vicentii</i> . |
| Ashraf H, Samiee M y col. 2007 (28) | In vivo | Nos dentes com lesões periapicais a <i>C. albicans</i> foi encontrada em 36,7% dos casos, enquanto nos dentes sem lesão periapical foi encontrada em 13,3% dos casos (diferenças estatisticamente significantes). |
| Siqueira J, Rocas I. 2008 (30) | Revisão | Microrganismos que sobrevivem às medidas de desinfecção: <i>E. faecalis</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Streptococcus spp</i> , <i>Pseudoramibacter alactolyticus</i> , <i>Propionibacterium propionicum</i> , <i>Filifactor alocis</i> , <i>Dialister spp</i> , <i>Actinomyces spp</i> , <i>Pseudomona aeruginosa</i> , <i>Bacilos entéricos</i> |
| Dudeja P, Kumar K y col. 2015 (31) | Revisão | Microrganismos que sobrevivem a medidas de desinfecção: <i>Actinomyces spp</i> , <i>Actinomyces israelii</i> , <i>Propionibacterium propionicum</i> , <i>E. faecalis</i> |

No estudo de Siqueira et al. (2016) foi utilizada uma abordagem de sequenciamento de próxima geração para identificar os táxons bacterianos que ocorrem em amostras de raízes apicais criopulverizadas de dentes com canal radicular tratado

com doença pós-tratamento. Espécies de raízes apicais obtidas durante a cirurgia perirradicular de dez dentes adequadamente tratados com periodontite apical persistente foram fragmentados criogenicamente. O ADN foi extraído do pó e o microbioma foi caracterizado com base na região hipervariável V4 do gene 16s ARNr. Os táxons bacterianos foram mapeados e mais de 85% das sequências pertenciam a quatro filos: *Proteobacteria*, *Firmocutes*, *Fusobacteria* e *Actinobacteria*. Em termos de abundância relativa por caso, os géneros mais dominantes foram "não classificados" (4 amostras), *Fusobacterium* (2 amostras), *Pseudomonas* (1 amostra), *Pyramidobacter* (1 amostra), *Stenotrophomonas* (1 amostra) e *Klebsiella* (1 amostra) (Figura 8) (Siqueira, Antunes, Rôças, Rachid, & Alves, 2016).

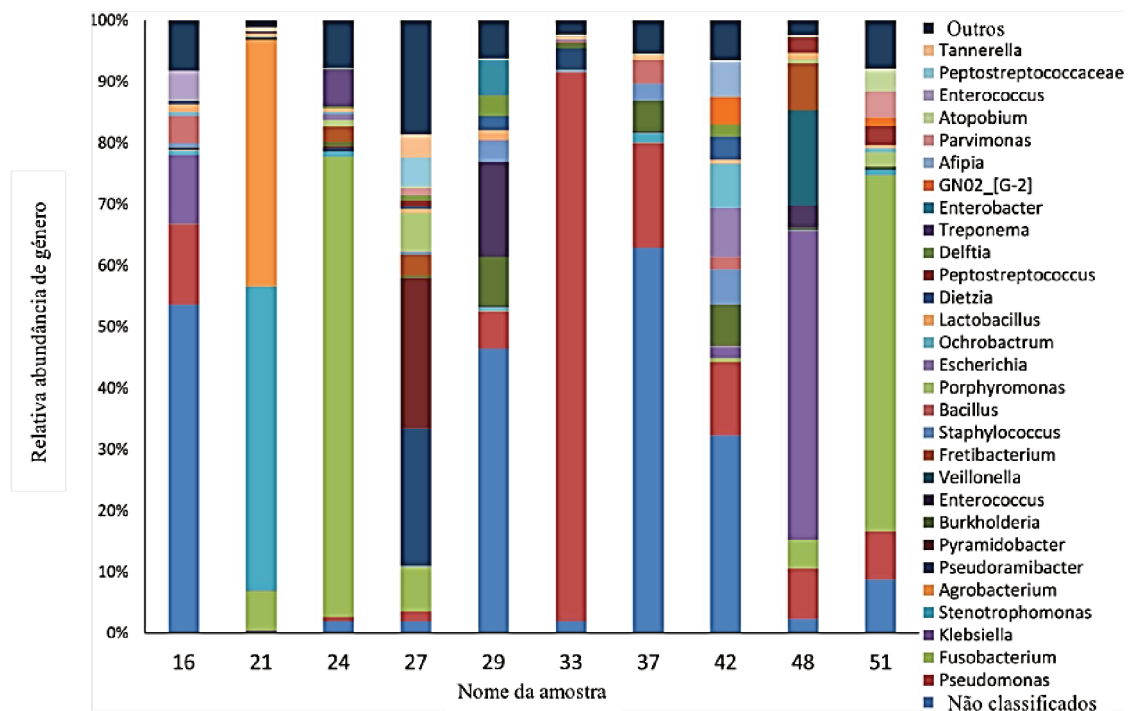


Figura 8 – Abundância relativa dos géneros bacterianos mais abundantes encontrados em cada uma das 10 amostras coletadas, durante a cirurgia perirradicular, do ápice radicular de dentes com periodontite apical pós-tratamento. O microbioma foi caracterizado com base na região hipervariável V4 do gene 16s ARNr. Figura adaptada de (Siqueira et al., 2016).

2. Ação das soluções irrigantes na instrumentação dos canais radiculares

A eliminação de bactérias do canal radicular é atingida por meio de soluções irrigantes e da ação mecânica de instrumentos. Para conseguir uma eficaz desinfecção dos canais radiculares requer-se o uso de soluções irrigantes antimicrobianas que reduzam a microflora e auxiliem na remoção de microrganismos de superfícies que não foram instrumentadas (Ruiz-Linares et al., 2017). As substâncias irrigadoras mais comuns são o hipoclorito de sódio, a clorexidina e o EDTA.

2.1. Hipoclorito de sódio (NaClO)

A redução microbiana produzida pelo hipoclorito de sódio pode ser explicada que, quando combinado com água, o hipoclorito de sódio produz ácido hipocloroso, que contém cloro ativo. O cloro exerce sua ação bactericida através da oxidação irreversível de grupos sulfidríla de enzimas bacterianas essenciais, interrompendo a função metabólica das células bacterianas. O hipoclorito de sódio também pode ter um efeito deletério no ADN bacteriano, que envolve a formação de derivados clorados de bases nucleotídicas (Pinheiro et al., 2018) (Krishnan, Saji, Clarkson, Laloo, & Moule, 2017).

No estudo de Du et al. (2015) o efeito antimicrobiano do NaClO, juntamente com cimentos obturadores, sobre a dentina infetada com *Enterococcus faecalis in vitro* foi analisado. As amostras infetadas foram colocadas em contacto com o NaClO 5% por 10 minutos, seguidas pela aplicação de uma quantidade igual de cimentos obturadores (AH Plus – Dentsply International Inc, Endosequence BC sealer – Brasseler USA ou MTA Fillapex – Angelus Indústria de Produtos Odontológicos S/A) mantidos por um período de tempo de 7, 30 e 60 dias. Após esse período a proporção de bactérias vivas/mortas foi avaliada através de microscopia confocal de varredura a laser e os resultados concluíram que a combinação de hipoclorito de sódio 5% com o cimento por 30-60 dias, foi responsável pela morte de mais bactérias do que ambas substâncias usadas isoladamente, sendo que a combinação com o cimento que apresentou melhores resultados foi o MTA Fillapex, matando 83% das bactérias nos túbulos dentinários no período de 60 dias (Du et al., 2015).

No estudo de Gergova et al. (2016) trezentos dentes recém extraídos foram infetados com variadas bactérias gram-positivas, gram-negativas e fúngicas e, então,

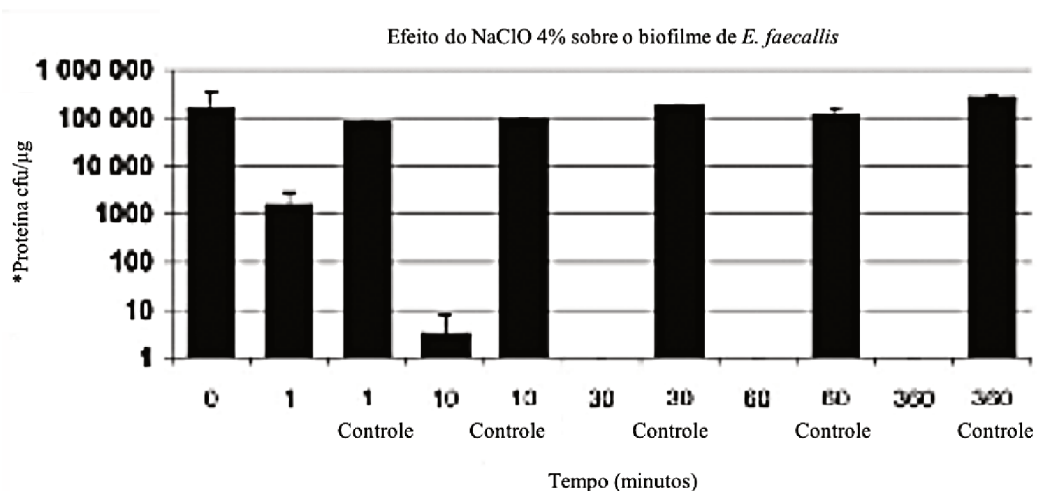
submetidos a ação de terapia com laser, terapia fotodinâmica, ionoforese e desinfecção com soluções irrigantes (clorexidina 2%, NaClO 2,5% e peróxido de hidrogênio 30%). Apenas o hipoclorito de sódio 2,5% foi capaz de eliminar as bactérias Gram-positivas e a maioria das Gram-negativas no biofilme dental (Gergova et al., 2016).

No estudo de Menezes et al. (2004) noventa e seis dentes humanos extraídos, tiveram suas coroas cortadas, foram esterilizados e depois contaminados com *Candida albicans* e *Enterococcus faecalis*, foram incubados por 7 dias e na sequência separados em grupos de acordo com a substância irrigadora ou medicação intra canal que seria utilizada (solução fisiológica estéril, pasta de hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol canforado, tricresol formalina, parmonoclorofenol furacin, hipoclorito de sódio 2,5%, clorexidina 2%), as amostras foram coletadas com pontas de papel estéril e então o crescimento bacteriano foi determinado. A eficácia do NaClO tem sido demonstrada por vários estudos, como visto anteriormente, porém nesse ensaio verificou-se que essa solução foi efetiva na primeira amostra microbiológica, realizada logo após a instrumentação, mas permitiu o crescimento microbiano depois de 7 dias de incubação. Mostrando que a *C. albicans* e *E. faecalis* foram capazes de recolonizar o canal radicular após a instrumentação e irrigação com NaClO 2,5%. O grupo que apresentou os melhores resultados foi a irrigação com clorexidina 2% e a pasta de hidróxido de cálcio com paramonoclorofenol canforado (Menezes et al., 2004).

No estudo de Mohammadi & Asgary (2015) duzentos e trinta e cinco incisivos superiores centrais e laterais humanos extraídos foram utilizados para avaliar a atividade antifúngica no canal ao final da irrigação com três concentrações de hipoclorito de sódio (NaClO) (0,5, 2,6 e 6%), duas concentrações de clorexidina (CHX) (2% e 0,2%), MTAD (Dentslpy), Tetraclean (Ogna Laboratori Farmaceutici), Hypoclean (Ogna Laboratori Farmaceutici) e Chlor-Xtra (mistura de hipoclorito de sódio 6% com agentes umectantes) contra *Candida albicans*. Os resultados mostraram que o efeito do NaClO 6%, Chlor-Xtra e clorexidina 2% sobre *C. albicans* foi significativamente maior que NaClO 2,6%, NaClO 0,5%, MTAD, clorexidina 0,2% e Tetraclean (Mohammadi & Asgary, 2015).

No estudo de Plutzer, et al. (2017) foi comparada a eficácia de medicamentos comumente utilizados contra *E. faecalis* cultivado como biofilme em substrato dentinário. Um biofilme de *E. faecalis* foi estabelecido em fatias de dentina humana de dentes extraídos, utilizando uma célula de fluxo contínuo e o crescimento do biofilme foi estabelecido ao longo de 4 semanas. Cada medicamento de teste (Ledermix – Aspen

Pharma, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, Odontopaste – Australian Dental, clorexidina 0,2% e combinações 50:50 de Ledermix / $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e Odontopaste / $\text{Ca}(\text{OH})_2$ foi introduzido na célula de fluxo e os biofilmes foram colhidos e quantificados pela determinação da proteína celular. Os resultados obtidos mostraram que o hipoclorito de sódio alcançou total eliminação bacteriana. A exposição ao hipoclorito de sódio a 4% produziu uma queda de 95% na viabilidade bacteriana em 1 min, e aumentou para 99,99% aos 10 minutos de exposição (Figura 9). Nenhuma bactéria viável poderia ser cultivada após 30 min, 60 min ou 6 h (Figura 9). Ledermix e Odontopaste não tiveram efeito significativo sobre o biofilme de *E. faecalis*. As combinações de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e 50:50 de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ / Ledermix ou $\text{Ca}(\text{OH})_2$ / Odontopaste reduziram a viabilidade em mais de 99%, enquanto a clorexidina 0,2% reduziu o número de bactérias em 97% (Plutzer, Zilm, Ratnayake, & Cathro, 2018).



*células viáveis expressas como unidades formadoras de colônias por ml por micrograma de proteína

Figura 9 - Efeito do hipoclorito de sódio (NaClO) a 4% sobre o biofilme de *Enterococcus faecalis*, comparados com o grupo controle de acordo com o tempo de exposição (0, 1, 10, 30, 60 e 360 minutos). Células viáveis expressas como unidades formadoras de colônias por micrograma de proteína. Figura adaptada de (Plutzer et al., 2018).

2.2 Clorexidina

A clorexidina a 2% tem sido utilizada como irrigante em tratamento endodôntico devido à sua ampla atividade antimicrobiana, capacidade de agir por um tempo

prolongado mesmo após sua aplicação, a qual é facilitada pela sua viscosidade, que mantém a solução em contato com as paredes do canal e os túbulos dentinários, e baixa citotoxicidade (Pinheiro et al., 2018).

No estudo de Zandi et al. (2016) dentes que já apresentavam tratamento endodôntico com periodontite apical foram distribuídos em dois grupos e amostras bacterianas foram retiradas dos canais antes (S1), e depois (S2) da preparação químico mecânica com o uso de hipoclorito de sódio 1% ou clorexidina 2% e após o uso de medicação intra canal com hidróxido de cálcio (S3). Para quantificar as bactérias, *Streptococcus* e *Enterococcus faecalis* foi utilizada reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real baseada no gene ribossomal 16S ribossômico. Os resultados (Figura 10) mostraram uma diminuição na contagem de bactérias de S1 para S2 em ambos os grupos, mas não houve nenhuma diferença significativa entre os dois protocolos de irrigação na redução da contagem de bactérias ou na promoção de canais livres de bactérias. A principal desvantagem da clorexidina quando comparada ao hipoclorito de sódio é a inabilidade de dissolver matéria orgânica (Zandi et al., 2016).

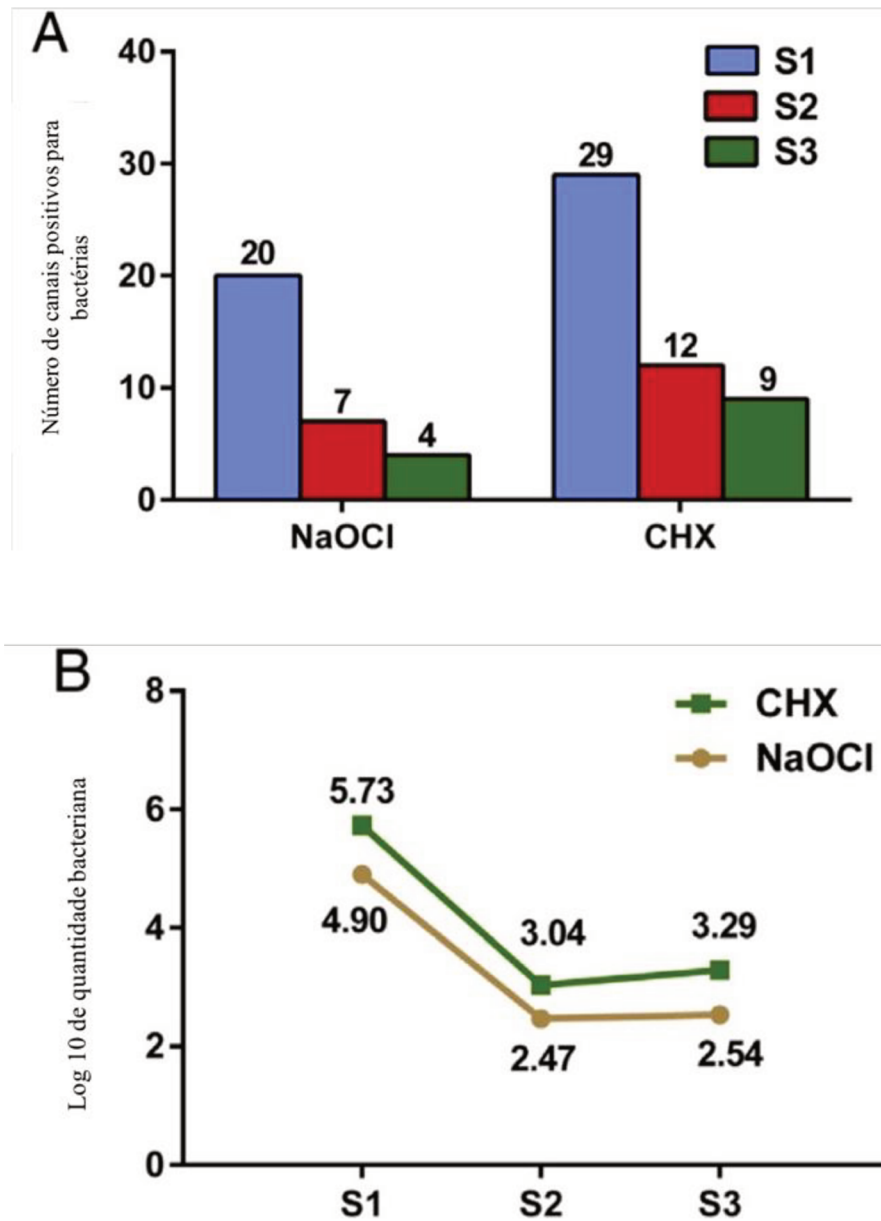


Figura 10 – Resultado do uso de hipoclorito de sódio 1% (NaClO) e clorexidina 2% (CHX) na redução da contagem de bactérias sobre as três amostras. A) O número de canais radiculares positivos para bactérias antes (S1) e depois (S2) da preparação químico mecânica usando NaClO e CHX como soluções irrigantes e depois da medicação intra canal (S3). B) Log 10 das contagens totais médias em S1, S2 e S3 para CHX(n=29) e NaClO (n=20). Um significativo aumento na quantidade de bactéria de S2 para S3 foi encontrada, com nenhuma diferença entre NaClO e CHX. Figura adaptada de (Zandi et al., 2016).

No estudo de Pinheiro et al. (2018) numa investigação realizada *ex vivo*, em canais méso-vestibulares de molares inferiores, foi analisada a eficácia de três soluções irrigantes diferentes, hipoclorito de sódio 2,5%, clorexidina 2%, água ozonizada e água destilada para o grupo controle, contra um biofilme de *Streptococcus mutans*, *Candida albicans* e *Enterococcus faecalis*. A redução microbiana produzida pelo hipoclorito de sódio 2,5% foi de 98,07%, com a clorexidina 2% foi de 98,31% após a instrumentação

e, provavelmente se deve a sua capacidade de absorver a dentina, agindo nas paredes celulares e na membrana citoplasmática das bactérias, resultando na perda do equilíbrio osmótico e vazamento de material intracelular. Foi comparado ainda o uso de água ozonizada que teve uma redução bacteriana de 98,02%, se mostrando um importante desinfetante no tratamento endodôntico (Pinheiro et al., 2018).

No estudo de Gergova et al. (2016) trezentos dentes recém extraídos foram infectados com microrganismos patogênicos (bactérias Gram-positivas: *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus aureus*; Bactérias Gram-negativas: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*; Fungo: *Candida albicans*). A formação de biofilme e os efeitos de terapia com laser, terapia fotodinâmica, iontoforese e a desinfecção com o uso de soluções irrigantes foram avaliadas pela contagem de gerações de células microbianas nas amostras dos canais radiculares e através de microscopia eletrônica de varredura. Nenhum dos métodos testados provou ser suficientemente efetivo na erradicação do biofilme da *P. aeruginosa*, muito provavelmente devido a grossura e barreiras protetoras do iodo presente no biofilme. Somente o hipoclorito de sódio 2,5% foi capaz de eliminar as bactérias Gram-positivas e a maioria das Gram-negativas do biofilme dental. Os outros métodos demonstraram efeitos bactericidas similares ao hipoclorito (Gergova et al., 2016).

Fusobacterium nucleatum é uma bactéria presente na cavidade oral, sobretudo em doenças periodontais. Está associada aos sinais e sintomas encontrados nas doenças endodônticas. Por isso, no estudo de Ashok et al. (2017) um biofilme de monocultura de *F. nucleatum* foi cultivado em lâminas de vidro, que então, foram imersas em tubos contendo hipoclorito de sódio 5%, clorexidina 2%, solução de curcuma a 6% e 9%, e água destilada por um período de um minuto. Após esse tempo as unidades formadoras de colônias foram quantificadas por análise estatística, e os resultados foram que a atividade antibacteriana da solução de curcuma a 6% e 9% foi significativa contra *Fusobacterium nucleatum* quando comparada à de clorexidina 2% e ao hipoclorito de sódio 5%, podendo ser considerada uma solução eficaz contra essa bactéria (Ashok, Ganesh, & Deivanayagam, 2017).

No estudo de Rôças et al. (2016) a eficácia do hipoclorito de sódio 2,5% e da clorexidina 2% foram comparados quando usados como substâncias irrigantes auxiliares no preparo de cinquenta dentes com canais radiculares únicos e periodontite apical

usando instrumentos rotatórios de níquel titânio, nomeadamente o sistema BioRaCe (Dentsply). As amostras foram coletadas antes e após a preparação mecânica e química. Foram extraídos o ADN das amostras clínicas e a redução dos níveis totais das bactérias e *Streptococcus* foram avaliadas por meio de um ensaio quantitativo da reação em cadeia da polimerase baseado no gene ARN ribossomal 16S. Os autores concluíram que ambas as substâncias são altamente eficazes na redução dos níveis de *Streptococcus* e nenhuma diferença significativa foi encontrada (Tabela 2) (Rôças, Provenzano, Neves, & Siqueira, 2016).

Tabela 2 – Incidência de resultados positivos nas amostras dos canais radiculares dos dentes com periodontite apical antes (S1) e após a preparação química e mecânica usando hipoclorito de sódio 2,5% (NaClO 2,5%) ou clorexidina 2% (CHX 2%) como irrigante (S2). Tabela adaptada de (Rôças et al., 2016).

| GRUPOS | BACTÉRIAS TOTAIS | | STREPTOCOCCUS | |
|------------|------------------|-------------|---------------|------------|
| | S1 | S2 | S1 | S2 |
| NaClO 2,5% | 25/25 (100)* | 11/25 (44)* | 16/25 (64)* | 8/25 (32)* |
| CHX 2% | 25/25 (100)* | 10/25 (40)* | 20/25 (80)* | 9/25 (36)* |

*número de casos positivos/número de casos avaliados

No estudo de Yang et al. (2016) foi verificado também a eficácia das soluções irrigantes sobre duas espécies de *E. faecalis*, isoladas e combinadas, e variando o tempo de 1 ou 3 semanas de incubação para permitir a maturação do biofilme. Para comparar qual substância apresentaria melhores resultados foram usados, água estéril, clorexidina 2% e hipoclorito de sódio 2%. E através de microscopia confocal com varredura a laser, os resultados obtidos mostraram que biofilmes maduros, mono e multiespécies são mais resistentes do que os correspondentes biofilmes jovens. Clorexidina e hipoclorito de sódio mostraram um efeito antibacteriano similar contra biofilmes gram-positivos de *E. faecalis* na dentina, enquanto que em biofilmes de multiespécies menos bactérias foram mortas pela clorexidina do que pelo hipoclorito de sódio (Yang et al., 2016).

Como mencionado anteriormente, a periodontite apical pós tratamento endodôntico é causada principalmente por bactérias que persistem ou que reinfectam os canais radiculares após o tratamento endodôntico inicial. No estudo de Zandi et al. (2018) através de análises de pirosequência foi conferida a comunidade bacteriana de canais radiculares endodonciados com periodontite apical, antes e após o retratamento

utilizando como soluções irrigadoras o hipoclorito de sódio 1% e a clorexidina 2%. O ADN foi extraído e as regiões variáveis do gene 16s ARNr (V3-V5) foram amplificadas e submetidas a pirosequenciação (GS júnior 454) para determinação da composição bacteriana. Somente amostras apresentando resultado positivo para reação cadeia polimerase (PCR) para bactérias em ambas amostras inicial e pós preparação e que ainda tenham ADN suficiente para reanálises foram incluídas. Um total de 68 gêneros foram detetados nas amostras, os mais abundantes foram *Streptococcus*, *Fusobacterium* e *Veillonella*. De um modo geral, o número de espécies reduziu-se de 20 para 9 após a irrigação dos canais com hipoclorito de sódio e para 8 quando irrigados com clorexidina. No presente estudo somente 2 amostras do grupo pré irrigação tinham uma grande prevalência de *Enterococcus* e nenhuma amostra do grupo pós irrigação apresentou essa bactéria (Zandi et al., 2018).

2.3 Ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA)

Como o NaClO não remove a lama dentinária criada durante a instrumentação, o EDTA é utilizado como um agente quelante (sequestra íons de cálcio, promovendo uma desmineralização na dentina) para solucionar este problema. A quelação contínua não é apenas interessante pela sua técnica clínica simples, mas também melhora a remoção de detritos do canal radicular (Wright, Kahler, & Walsh, 2019). Além disso, aumenta o efeito antimicrobiano do NaClO na ausência da lama dentinária (Morago et al., 2016) e mostra boa compatibilidade com alguns materiais dentários (Paulson, Ballal, & Bhagat, 2018). Acredita-se que os quelantes promovam o desprendimento dos biofilmes das paredes do canal radicular. A rutura do biofilme pode ser causada pela presença constante do quelante (Arias-Moliz et al., 2016). Ele também remove os íons metálicos necessários para a nutrição bacteriana (Estrela et al., 2018).

3. Lesões Periapicais

As lesões periapicais são constituídas por um microbioma diretamente relacionado com o canal radicular e podem, por isso, serem tratadas por abordagens endodônticas não cirúrgicas nos casos onde existe comunicação direta com o sistema de canais radiculares. Por outro lado, quando a lesão é separada do forame apical e coberta

completamente por um epitélio intacto, ela pode não cicatrizar (Ghorbanzadeh et al., 2017).

As lesões periapicais crônicas desenvolvem-se após a necrose pulpar como resposta do sistema imune a estímulos invasivos na região periapical. Essas lesões são caracterizadas por uma microbiota mista na qual predomina a bactéria Gram-positiva e a Gram-negativa. Alguns vírus, membros da família de herpesvírus, incluindo o vírus Epstein-Barr, o citomegalovírus humano e o herpesvírus humano 6, também foram associados à microbiota residente de lesões periapicais, como granulomas periapicais e cistos radiculares (Silva et al., 2017).

No estudo de Pereira, et al. (2017) com o objetivo de realizar uma análise microbiana do canal radicular e lesão perirradicular associada a dentes com falha endodôntica, a quantificação de dez microrganismos nas extremidades radiculares e nas lesões perirradiculares circundantes foi realizada. Trinta amostras de extremidades radiculares de 3mm e 30 amostras circundantes a infecção periapical crônica foram coletadas durante microcirurgia apical. As amostras foram trituradas e o ADN bacteriano foi obtido. A população bacteriana nas extremidades radiculares e nos tecidos perirradiculares consistiu, em ordem decrescente de prevalência: *Fusobacterium. nucleatum* (71,6%)> *Dialister pneumosintes* (58,3%)> *Tannerella forsythia* (48,3%)> *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (25%)> *Treponema denticola* (16,6%)> *Prevotella intermedia* (15%)> *Porphyromonas gingivalis* (15%)> *Enterococcus faecalis* (11,6%)> *Porphyromonas endodontalis* (10%)> *Prevotella nigrescens* (1,6%). Foi observada associação estatisticamente significativa entre *T. forsythia* e *P. gingivalis* nas extremidades radiculares. Associações bacterianas de 2 a 7 espécies foram observadas na maioria das amostras. Infecções extra-radiculares e / ou intra-radiculares estiveram presentes em todos os dentes com falha do tratamento endodôntico, e apresentaram infecção polimicrobiana na maioria dos casos. Os resultados encontrados mostram que o arranjo bacteriano associado às extremidades radiculares de 3 mm e lesões perirradiculares na periodontite apical pós-tratamento é complexo e com alta variabilidade interindividual como pode ser visto na Tabela 3 (Pereira et al., 2017).

Tabela 3 – Presença bacteriana e associação em amostras do ápice radicular e lesão periapical.
Tabela adaptada de (Pereira et al., 2017).

| PACIENTES | ÁPICE RADICULAR | LESÃO PERIAPICAL |
|-----------|---|---|
| P1 | <i>A. actinomycetemcomitans</i> | Nenhum |
| P2 | <i>A. actinomycetemcomitans</i> | <i>A. actinomycetemcomitans</i> |
| P3 | <i>A. actinomycetemcomitans</i> , <i>F. nucleatum</i> , <i>D. pneumosintes</i> , <i>E. faecalis</i> | <i>A. actinomycetemcomitans</i> |
| P4 | <i>D. pneumosintes</i> | <i>A. actinomycetemcomitans</i> , <i>F. nucleatum</i> , <i>D. pneumosintes</i> |
| P5 | <i>A. actinomycetemcomitans</i> , <i>D. pneumosintes</i> | <i>A. actinomycetemcomitans</i> |
| P6 | <i>D. pneumosintes</i> | <i>A. actinomycetemcomitans</i> |
| P7 | <i>D. pneumosintes</i> , <i>T. forsythia</i> , <i>E. faecalis</i> | <i>F. nucleatum</i> , <i>D. pneumosintes</i> , <i>P. intermedia</i> , <i>E. faecalis</i> |
| P8 | <i>F. nucleatum</i> | <i>D. pneumosintes</i> , <i>T. forsythia</i> , <i>T. denticola</i> |
| P9 | <i>F. nucleatum</i> , <i>T. forsythia</i> | <i>F. nucleatum</i> |
| P10 | <i>F. nucleatum</i> , <i>D. pneumosintes</i> , <i>T. forsythia</i> | <i>F. nucleatum</i> , <i>T. forsythia</i> |
| P11 | <i>F. nucleatum</i> , <i>D. pneumosintes</i> , <i>P. nigrescens</i> , <i>T. forsythia</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>P. endodontalis</i> | <i>F. nucleatum</i> , <i>T. forsythia</i> |
| P12 | <i>F. nucleatum</i> , <i>D. pneumosintes</i> , <i>P. intermedia</i> , <i>T. forsythia</i> | <i>F. nucleatum</i> , <i>D. pneumosintes</i> |
| P13 | Nenhum | <i>F. nucleatum</i> , <i>D. pneumosintes</i> , <i>T. forsythia</i> , <i>P. endodontalis</i> |
| P14 | <i>F. nucleatum</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>D. pneumosintes</i> , <i>T. forsythia</i> , <i>T. denticola</i> | <i>F. nucleatum</i> , <i>T. forsythia</i> , <i>T. denticola</i> , <i>P. endodontalis</i> |
| P15 | <i>F. nucleatum</i> , <i>D. pneumosintes</i> , <i>T. forsythia</i> | <i>F. nucleatum</i> , <i>D. pneumosintes</i> , <i>T. forsythia</i> , <i>T. denticola</i> |
| P16 | <i>F. nucleatum</i> , <i>A. actinomycetemcomitans</i> , <i>P.</i> | <i>P. gingivalis</i> , <i>T. forsythia</i> |

| | | |
|-----|---|---|
| | <i>gingivalis, D. pneumosintes, T. forsythia</i> | |
| P17 | <i>F. nucleatum, D. pneumosintes, T. forsythia, T. denticola</i> | <i>F. nucleatum, A. actinomycetemcomitans, P. gingivalis, D. pneumosintes, T. denticola</i> |
| P18 | <i>F. nucleatum, T. forsythia</i> | <i>F. nucleatum, P. intermedia</i> |
| P19 | <i>F. nucleatum, A. actinomycetemcomitans, P. gingivalis, P. intermedia, T. forsythia</i> | <i>F. nucleatum, T. forsythia</i> |
| P20 | <i>F. nucleatum, D. pneumosintes, T. forsythia</i> | <i>F. nucleatum, D. pneumosintes</i> |
| P21 | <i>F. nucleatum, D. pneumosintes</i> | <i>F. nucleatum, D. pneumosintes, T. forsythia</i> |
| P22 | <i>F. nucleatum, P. gingivalis, D. pneumosintes, T. forsythia, P. endodontalis</i> | Nenhum |
| P23 | <i>F. nucleatum, T. forsythia</i> | <i>F. nucleatum, A. actinomycetemcomitans</i> |
| P24 | <i>F. nucleatum, D. pneumosintes</i> | <i>F. nucleatum, D. pneumosintes</i> |
| P25 | <i>F. nucleatum, D. pneumosintes, P. endodontalis</i> | <i>F. nucleatum, P. intermedia, T. forsythia, P. endodontalis</i> |
| P26 | <i>F. nucleatum, P. gingivalis, D. pneumosintes, P. intermedia, T. forsythia, T. denticola, E. faecalis</i> | <i>F. nucleatum, P. gingivalis, D. pneumosintes, A. actinomycetemcomitans T. forsythia, E. faecalis</i> |
| P27 | <i>F. nucleatum, D. pneumosintes, T. denticola</i> | <i>D. pneumosintes, P. intermedia</i> |
| P28 | <i>F. nucleatum, D. pneumosintes, A. actinomycetemcomitans, P. intermedia</i> | <i>F. nucleatum, D. pneumosintes, T. forsythia</i> |
| P29 | <i>F. nucleatum, D. pneumosintes, E. faecalis D. pneumosintes, T. forsythia</i> | <i>F. nucleatum, P. gingivalis, P. intermedia, T. denticola, F. nucleatum, T. forsythia, T. denticola</i> |
| P30 | <i>A. actinomycetemcomitans</i> | Nenhum |

IV. CONCLUSÃO

É de consenso geral que as infecções endodônticas são causadas principalmente por bactérias que se infiltram no sistema de canais radiculares em decorrência da necrose do tecido pulpar, e que pode se estender para o meio extra radicular causando lesões ósseas inflamatórias. O principal objetivo do tratamento endodôntico é eliminar essa microbiota e devolver a saúde a esses tecidos periapicais.

Os estudos realizados com base nos métodos de cultura microbiana, na grande maioria das vezes, não são capazes de revelar a verdadeira colonização bacteriana presente nas infecções, levando a insucessos na terapia realizada. Para solucionar essa limitação lançamos mão de estudos mais precisos, como é o caso na investigação através do sequenciamento da nova geração, que como foi revisto, revelam resultados muito mais assertivos a respeito de quais microrganismos estamos diante e assim podemos conduzir o tratamento de maneira muito mais objetiva e eficaz.

Na busca de eliminar ou reduzir ao máximo a microflora presente nessas infecções dispomos de meios que os auxiliam nessa desinfecção. Como é o caso das soluções irrigadoras e as medicações intra canais.

Apesar de novas alternativas estarem sendo sempre investigadas, é possível dizer que, atualmente, a substância irrigante mais utilizada, em função do largo espectro alcançado, sua fácil utilização e seu baixo custo, é o hipoclorito de sódio nas suas diversas concentrações, seguido pelo gel de clorexidina, que apresenta resultados semelhantes em níveis bactericidas dos alcançados com o NaClO.

No que se refere ao uso de medicações intra canais dispomos, entre outras, de pastas com misturas de antibióticos e a clássica pasta de hidróxido de cálcio, que já vem sendo utilizada há muitos anos, e tem comprovado sua grande valia como auxiliar na desinfecção dos canais radiculares. Vimos que é altamente eficaz na redução do número de bactérias presentes como também na variedade das espécies encontradas nas infecções. E também apresenta uma enorme significância no tratamento das lesões periapicais que em decorrência da eliminação de conteúdo microbiano promove erradicação da inflamação e a consequente regeneração óssea.

Quando esse conteúdo bacteriano avança para além dos canais radiculares e invade os espaços perirradiculares nos deparamos com as lesões inflamatórias apicais, que provocam reabsorção óssea, e quando não tratada pode atingir grandes proporções.

Como vimos, anteriormente, em uma grande maioria dos casos, em que a infecção periapical tem comunicação com os canais radiculares, é possível atingir altos níveis de sucesso na regressão da lesão e na regeneração óssea. Entretanto, em alguns casos, em função da alta patogenicidade do conteúdo microbiano ou de falhas técnicas na execução dos tratamentos esse sucesso não é alcançado. É nesse momento em que dispomos de uma última alternativa, na tentativa de restabelecer a saúde desses tecidos e a manutenção desse ou desses elementos dentários.

Como opção de tratamento, quando os demais não obtiveram os resultados desejáveis, temos a cirurgia periapical onde a lesão com todo seu conteúdo inflamatório é removida por meio de uma enucleação e, então, é encaminhada para exame histopatológico.

É válido ressaltar a importância dos meios de diagnóstico auxiliares como a radiografias periapicais, ortopantomografias e tomografias computadorizadas para prevenir, auxiliar nas determinações de tratamentos e na preservação dos procedimentos realizados objetivando controlar se a saúde foi restabelecida e o mais importante, mantida.

V. BIBLIOGRAFIA

- Arias-Moliz, M. T., Morago, A., Ordinola-Zapata, R., Ferrer-Luque, C. M., Ruiz-Linares, M., & Baca, P. (2016). Effects of Dentin Debris on the Antimicrobial Properties of Sodium Hypochlorite and Etidronic Acid. *J Endod*, 42(5), 771-775. doi:10.1016/j.joen.2016.01.021
- Arruda, M. E. F., Neves, M. A. S., Diogenes, A., Mdala, I., Guilherme, B. P. S., Siqueira, J. F., & Rôças, I. N. (2018). Infection Control in Teeth with Apical Periodontitis Using a Triple Antibiotic Solution or Calcium Hydroxide with Chlorhexidine: A Randomized Clinical Trial. *J Endod*, 44(10), 1474-1479. doi:10.1016/j.joen.2018.07.001
- Ashok, R., Ganesh, A., & Deivanayagam, K. (2017). Bactericidal Effect of Different Anti-Microbial Agents on *Fusobacterium Nucleatum* Biofilm. *Cureus*, 9(6), e1335. doi:10.7759/cureus.1335
- Bikel, S., Valdez-Lara, A., Cornejo-Granados, F., Rico, K., Canizales-Quinteros, S., Soberón, X., . . . Ochoa-Leyva, A. (2015). Combining metagenomics, metatranscriptomics and viromics to explore novel microbial interactions: towards a systems-level understanding of human microbiome. *Comput Struct Biotechnol J*, 13, 390-401. doi:10.1016/j.csbj.2015.06.001
- Du, T., Wang, Z., Shen, Y., Ma, J., Cao, Y., & Haapasalo, M. (2015). Combined Antibacterial Effect of Sodium Hypochlorite and Root Canal Sealers against *Enterococcus faecalis* Biofilms in Dentin Canals. *J Endod*, 41(8), 1294-1298. doi:10.1016/j.joen.2015.04.023
- Estrela, C., Costa E Silva, R., Urban, R. C., Gonçalves, P. J., Silva, J. A., Estrela, C. R. A., . . . Peters, O. A. (2018). Demetallization of *Enterococcus faecalis* biofilm: a preliminary study. *J Appl Oral Sci*, 26, e20170374. doi:10.1590/1678-7757-2017-0374

- Fritz, B., Stavnsbjerg, C., Markvart, M., Damgaard, P. B., Nielsen, S. H., Bjørndal, L., . . . Bjarnsholt, T. (2019). Shotgun sequencing of clinical biofilm following scanning electron microscopy identifies bacterial community composition. *Pathog Dis*, 77(1). doi:10.1093/femspd/ftz013
- Gao, L., Xu, T., Huang, G., Jiang, S., Gu, Y., & Chen, F. (2018). Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body. *Protein Cell*, 9(5), 488-500. doi:10.1007/s13238-018-0548-1
- Gergova, R. T., Gueorgieva, T., Dencheva-Garova, M. S., Krasteva-Panova, A. Z., Kalchinov, V., Mitov, I., & Kamenoff, J. (2016). Antimicrobial activity of different disinfection methods against biofilms in root canals. *J Investig Clin Dent*, 7(3), 254-262. doi:10.1111/jicd.12147
- Ghorbanzadeh, S., Ashraf, H., Hosseinpour, S., & Ghorbanzadeh, F. (2017). Nonsurgical Management of a Large Periapical Lesion: A Case Report. *Iran Endod J*, 12(2), 253-256. doi:10.22037/iej.2017.49
- Glickman, G. N. (2009). AAE Consensus Conference on Diagnostic Terminology: background and perspectives. *J Endod*, 35(12), 1619-1620. doi:10.1016/j.joen.2009.09.029
- Gomes, B. P., Berber, V. B., Kokaras, A. S., Chen, T., & Paster, B. J. (2015). Microbiomes of Endodontic-Periodontal Lesions before and after Chemomechanical Preparation. *J Endod*, 41(12), 1975-1984. doi:10.1016/j.joen.2015.08.022
- Gonçalves, S. R. F. (2016). *O Microbioma Intestinal Humano e suas Implicações na Saúde*. (Mestrado Integrado). Universidade de Coimbra, Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. Retrieved from https://estudogeral.uc.pt/bitstream/10316/48409/1/M_Silvia%20Gonçalves.pdf
- Henriques, L. C., de Brito, L. C., Tavares, W. L., Teles, R. P., Vieira, L. Q., Teles, F. R., & Sobrinho, A. P. (2016). Microbial Ecosystem Analysis in Root Canal

- Infections Refractory to Endodontic Treatment. *J Endod*, 42(8), 1239-1245.
doi:10.1016/j.joen.2016.05.014
- Keskin, C., Demiryürek, E., & Onuk, E. E. (2017). Pyrosequencing Analysis of Cryogenically Ground Samples from Primary and Secondary/Persistent Endodontic Infections. *J Endod*, 43(8), 1309-1316.
doi:10.1016/j.joen.2017.03.019
- Krishnan, U., Saji, S., Clarkson, R., Laloo, R., & Moule, A. J. (2017). Free Active Chlorine in Sodium Hypochlorite Solutions Admixed with Octenidine, SmearOFF, Chlorhexidine, and EDTA. *J Endod*, 43(8), 1354-1359.
doi:10.1016/j.joen.2017.03.034
- Mark Welch, J. L., Rossetti, B. J., Rieken, C. W., Dewhirst, F. E., & Borisy, G. G. (2016). Biogeography of a human oral microbiome at the micron scale. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 113(6), E791-800. doi:10.1073/pnas.1522149113
- Menezes, M. M., Valera, M. C., Jorge, A. O., Koga-Ito, C. Y., Camargo, C. H., & Mancini, M. N. (2004). In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. *Int Endod J*, 37(5), 311-319. doi:10.1111/j.0143-2885.2004.00799.x
- Messing, M., Souza, L. C., Cavalla, F., Kookal, K. K., Rizzo, G., Walji, M., . . . Letra, A. (2019). Investigating Potential Correlations between Endodontic Pathology and Cardiovascular Diseases Using Epidemiological and Genetic Approaches. *J Endod*, 45(2), 104-110. doi:10.1016/j.joen.2018.10.014
- Mohammadi, Z., & Asgary, S. (2015). A comparative study of antifungal activity of endodontic irrigants. *Iran Endod J*, 10(2), 144-147.
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D. G., & Group, P. (2009). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *J Clin Epidemiol*, 62(10), 1006-1012.
doi:10.1016/j.jclinepi.2009.06.005

- Morago, A., Ordinola-Zapata, R., Ferrer-Luque, C. M., Baca, P., Ruiz-Linares, M., & Arias-Moliz, M. T. (2016). Influence of Smear Layer on the Antimicrobial Activity of a Sodium Hypochlorite/etidronic Acid Irrigating Solution in Infected Dentin. *J Endod*, 42(11), 1647-1650. doi:10.1016/j.joen.2016.07.023
- Nóbrega, L. M., Montagner, F., Ribeiro, A. C., Mayer, M. A., & Gomes, B. P. (2016). Bacterial diversity of symptomatic primary endodontic infection by clonal analysis. *Braz Oral Res*, 30(1), e103. doi:10.1590/1807-3107BOR-2016.vol30.0103
- Paulson, L., Ballal, N. V., & Bhagat, A. (2018). Effect of Root Dentin Conditioning on the Pushout Bond Strength of Biodentine. *J Endod*, 44(7), 1186-1190. doi:10.1016/j.joen.2018.04.009
- Pereira, R. S., Rodrigues, V. A. A., Furtado, W. T., Gueiros, S., Pereira, G. S., & Avila-Campos, M. J. (2017). Microbial analysis of root canal and periradicular lesion associated to teeth with endodontic failure. *Anaerobe*, 48, 12-18. doi:10.1016/j.anaerobe.2017.06.016
- Persoon, I. F., Buijs, M. J., Özok, A. R., Crielaard, W., Krom, B. P., Zaura, E., & Brandt, B. W. (2017). The mycobionome of root canal infections is correlated to the bacteriome. *Clin Oral Investig*, 21(5), 1871-1881. doi:10.1007/s00784-016-1980-3
- Pinheiro, S. L., da Silva, C. C., da Silva, L. A., Cicotti, M. P., Bueno, C. E. D. S., Fontana, C. E., . . . de Campos, F. U. (2018). Antimicrobial efficacy of 2.5% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine, and ozonated water as irrigants in mesiobuccal root canals with severe curvature of mandibular molars. *Eur J Dent*, 12(1), 94-99. doi:10.4103/ejd.ejd_324_17
- Plutzer, B., Zilm, P., Ratnayake, J., & Cathro, P. (2018). Comparative efficacy of endodontic medicaments and sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* biofilms. *Aust Dent J*, 63(2), 208-216. doi:10.1111/adj.12580

- Prada, I., Micó-Muñoz, P., Giner-Lluesma, T., Micó-Martínez, P., Collado-Castellano, N., & Manzano-Saiz, A. (2019). Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 24(3), e364-e372. doi:10.4317/medoral.22907
- Ruiz-Linares, M., Aguado-Pérez, B., Baca, P., Arias-Moliz, M. T., & Ferrer-Luque, C. M. (2017). Efficacy of antimicrobial solutions against polymicrobial root canal biofilm. *Int Endod J*, 50(1), 77-83. doi:10.1111/iej.12598
- Rôças, I. N., Provenzano, J. C., Neves, M. A., & Siqueira, J. F. (2016). Disinfecting Effects of Rotary Instrumentation with Either 2.5% Sodium Hypochlorite or 2% Chlorhexidine as the Main Irrigant: A Randomized Clinical Study. *J Endod*, 42(6), 943-947. doi:10.1016/j.joen.2016.03.019
- Silva, L. A. B. D., Sá, M. A. R., Melo, R. A., Pereira, J. D. S., Silveira, É., & Miguel, M. C. D. C. (2017). Analysis of CD57+ natural killer cells and CD8+ T lymphocytes in periapical granulomas and radicular cysts. *Braz Oral Res*, 31, e106. doi:10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0106
- Siqueira, J. F., Antunes, H. S., Rôças, I. N., Rachid, C. T., & Alves, F. R. (2016). Microbiome in the Apical Root Canal System of Teeth with Post-Treatment Apical Periodontitis. *PLoS One*, 11(9), e0162887. doi:10.1371/journal.pone.0162887
- Sultan, A. S., Kong, E. F., Rizk, A. M., & Jabra-Rizk, M. A. (2018). The oral microbiome: A Lesson in coexistence. *PLoS Pathog*, 14(1), e1006719. doi:10.1371/journal.ppat.1006719
- Tzanetakis, G. N., Azcarate-Peril, M. A., Zachaki, S., Panopoulos, P., Kontakiotis, E. G., Madianos, P. N., & Divaris, K. (2015). Comparison of Bacterial Community Composition of Primary and Persistent Endodontic Infections Using Pyrosequencing. *J Endod*, 41(8), 1226-1233. doi:10.1016/j.joen.2015.03.010

- Wang, Y., Zhang, J., Chen, X., Jiang, W., Wang, S., Xu, L., . . . Chen, H. (2017). Profiling of Oral Microbiota in Early Childhood Caries Using Single-Molecule Real-Time Sequencing. *Front Microbiol*, 8, 2244. doi:10.3389/fmicb.2017.02244
- Wright, P. P., Kahler, B., & Walsh, L. J. (2019). The Effect of Heating to Intracanal Temperature on the Stability of Sodium Hypochlorite Admixed with Etidronate or EDTA for Continuous Chelation. *J Endod*, 45(1), 57-61. doi:10.1016/j.joen.2018.09.014
- Yang, Y., Shen, Y., Wang, Z., Huang, X., Maezono, H., Ma, J., . . . Haapasalo, M. (2016). Evaluation of the Susceptibility of Multispecies Biofilms in Dentinal Tubules to Disinfecting Solutions. *J Endod*, 42(8), 1246-1250. doi:10.1016/j.joen.2016.05.011
- Yun, K. H., Lee, H. S., Nam, O. H., Moon, C. Y., Lee, J. H., & Choi, S. C. (2017). Analysis of bacterial community profiles of endodontically infected primary teeth using pyrosequencing. *Int J Paediatr Dent*, 27(1), 56-65. doi:10.1111/ipd.12226
- Zandi, H., Kristoffersen, A. K., Ørstavik, D., Rôças, I. N., Siqueira, J. F., & Enersen, M. (2018). Microbial Analysis of Endodontic Infections in Root-filled Teeth with Apical Periodontitis before and after Irrigation Using Pyrosequencing. *J Endod*, 44(3), 372-378. doi:10.1016/j.joen.2017.11.019
- Zandi, H., Rodrigues, R. C., Kristoffersen, A. K., Enersen, M., Mdala, I., Ørstavik, D., . . . Siqueira, J. F. (2016). Antibacterial Effectiveness of 2 Root Canal Irrigants in Root-filled Teeth with Infection: A Randomized Clinical Trial. *J Endod*, 42(9), 1307-1313. doi:10.1016/j.joen.2016.06.006
- Zheng, J., Wu, Z., Niu, K., Xie, Y., Hu, X., Fu, J., . . . Wu, L. (2019). Microbiome of Deep Dentinal Caries from Reversible Pulpitis to Irreversible Pulpitis. *J Endod*, 45(3), 302-309.e301. doi:10.1016/j.joen.2018.11.017

VI. ANEXO

Tabela de discussão com os principais resultados de cada artigo classificados por tipos de infecção e principais bactérias encontradas:

| Tamanho da Amostra | Tipo de infecção | Bactérias encontradas | Métodos utilizados | Autores |
|-----------------------|---|---|--|---|
| 75 doentes | Polpa normal com cárie profunda Pulpite reversível dor provocada com frio Pulpite reversível dor provocada com frio e calor Pulpite irreversível sintomática | <i>Firmicutes, Actinobacteria e Lactobacillus Pseudoramibacter e Streptococcus,</i> <i>Firmicutes, Actinobacteria e Lactobacillus</i> <i>Firmicutes, Actinobacteria e Lactobacillus, Actinomyces e Não Identificado_Veillonellaceae</i> <i>Firmicutes, Actinobacteria e Lactobacillus Propionibacterium, Olsenella e Actinomyces</i> | Sequenciamento genómico | (Zheng et al., 2019) |
| 10 dentes | Cárie e Infecção em dentes decíduos | <i>Neisseria, Streptococcus, Veillonella, Lactobacillus Acinetobacter, Enterobacter, Chryseobacterium, AF287795, Fusobacterium, Prevotella, Dialister, Atopobium, Kingella, Corynebacterium, Actinomyces, Haemophilus, Enhydrobacter e Selenomonas.</i> | Pirosequenciação de alto rendimento | (Yun et al., 2017) |
| 10 canais radiculares | Abcesso apical agudo | <i>Prevotella</i> , incluindo <i>P. baroniae</i> , <i>P. buccae</i> , <i>P. denticola</i> , <i>P. intermedia</i> , <i>P. loescheii</i> , <i>P. maculosa</i> , <i>P. marshii</i> , <i>P. oris</i> e <i>P. oulorum</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Filifactor alocis</i> , <i>Peptostreptococcus stomatis</i> , <i>Dialister invisus</i> , <i>Phocaeicola abscessus</i> , <i>Eubacterium spp.</i> , o clone oral de <i>Lachnospiraceae</i> não caracterizado, <i>Porphyromonas spp.</i> e <i>Parvimonas micra</i> | Análise clonal | (Nóbrega, Montagner, Ribeiro, Mayer, & Gomes, 2016) |
| 48 dentes | Infeções primárias e infeções | <i>Bacteroidaceae</i> não identificado, <i>Pyramidobacter</i> e <i>Parvimonas</i> foram os mais | Pirosequenciação de alto rendimento e sequenciamento | (Tzanetakis et al., 2015) |

| | | | | |
|--------------------------------|------------------------------------|--|--|--------------------------|
| | persistentes | abundantes em infecções primárias, enquanto <i>Fusobacterium</i> , <i>Bacteroidaceae</i> e <i>Prevotella</i> foram os mais abundantes em dentes com infecções persistentes, com acréscimo de <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Sphingomonas</i> e <i>Ralstonia</i> | genómico | |
| 10 canais radiculares tratados | Periodontite apical pós tratamento | <i>Streptococcus</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Treponema</i> , <i>Parvimonas</i> , <i>Fretibacterium</i> e <i>Veillonella</i> | Pirosequenciamento e sequenciamento genómico | (Zandi et al., 2018) |
| 1 amostra | Periodontite apical pós tratamento | Prevalência de <i>Actinomyces sp.</i> , <i>Fusobacterium sp.</i> e <i>Treponema sp</i> | Sequenciamento genómico | (Fritz et al., 2019) |
| 40 doentes | Periodontite apical pós tratamento | <i>Corynebacterium diptheriae</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Eubactium saphenum</i> , <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Dialister pneumosintes</i> , <i>Clostridium difficile</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Salmonella entérica</i> , <i>Mobiluncus mulieris</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Bacteroides ureolyticus</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Prevotella oris</i> e <i>Enterococcus faecalis</i> | Sequenciamento genómico | (Henriques et al., 2016) |